

**UNTERSUCHUNGEN ÜBER
QUECKSILBERVERTEILUNG UND
MONOAMINOXIDASEAKTIVITÄT
IN GEHIRN UND LEBER BEI SUBCHRONISCHER
METHYLQUECKSILBERBELASTUNG**

Thomas Wolf

1975



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551910_0062

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
im Fachbereich Tiermedizin der Universität München
unter Anleitung von Prof. Dr. A. Schmid

UNTERSUCHUNGEN ÜBER QUECKSILBERVERTEILUNG UND MONOAMINOXIDASE-
AKTIVITÄT IN GEHIRN UND LEBER BEI SUBCHRONISCHER METHYLQUECK-
SILBERBELASTUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Uni-
versität München

von
Thomas Wolf
aus
München

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. A. Schmid
Korreferent: Prof. Dr. H.-H. Reichenbach-Klinke

Tag der Promotion: 21. Februar 1975

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. <u>EINLEITUNG</u>	1
II. <u>LITERATURÜBERSICHT</u>	2
1. <u>Monoaminoxidase</u>	2
1.1. Eigenschaften der Monoaminoxidase	2
1.2. Verteilung der Monoaminoxidase im Organismus	5
1.3. Monoaminoxidase im Stoffwechsel	7
1.4. Monoaminoxidase-Hemmstoffe	10
2. <u>Methylquecksilber</u>	19
2.1. Methylquecksilber in der Umwelt	19
2.2. Methylquecksilber im Stoffwechsel	21
2.3. Klinisches Vergiftungsbild	26
2.4. Pathologisches Vergiftungsbild	28
2.5. Therapie der Methylquecksilbervergiftung	30
III. <u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</u>	31
1. <u>Prinzip</u>	31
2. <u>Tierversuche</u>	31
2.1. Versuchstiere	31
2.2. Vorversuch	31
2.3. Hauptversuch	34
3. <u>Analytische Methodik</u>	35
3.1. Reagenzien und Lösungen	35
3.2. Geräte	37
3.3. Bestimmung der Monoaminoxidase-Aktivität	37
3.4. Bestimmung der Quecksilberkonzentration	40

	Seite
4. <u>Ergebnisse</u>	43
4.1. Körpergewichtsentwicklung	43
4.2. Klinisches Vergiftungsbild	46
4.3. Monoaminoxidase-Aktivität in Gehirn und Leber	46
4.4. Quecksilbergehalte in Gehirn und Leber	51
IV. <u>DISKUSSION</u>	55
V. <u>ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY</u>	58
VI. <u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	60
LEBENS LAUF	81



I. EINLEITUNG

Organische Quecksilberverbindungen haben lange Zeit als Saatgutfungizide Verwendung gefunden. Sie entstehen außerdem aus anorganischem Quecksilber bei der Einwirkung von Mikroorganismen, z.B. im Schlamm von Gewässern. Auch im tierischen Organismus wird anorganisches Quecksilber bei der Biotransformation alkyliert.

Eine toxikologisch wichtige Eigenschaft organischer Quecksilberverbindungen ist ihre gute Lipoidlöslichkeit. Sie hat eine hohe Penetrationsfähigkeit für biologische Membranen zur Folge. Die Konsequenz ist ein Verteilungsmuster im Organismus, welches das zentrale und periphere Nervensystem einschließt. Dies erklärt die nervösen Symptome (Exzitation, Tobsuchtsanfälle, Zwangsbewegungen etc.) bei chronischen Quecksilbervergiftungen oder akuten Vergiftungen mit organisch gebundenem Quecksilber.

Das Zustandekommen der nervösen Symptome ist nicht bekannt. Eine potentielle Möglichkeit stellt die Hemmung der Monoaminoxidase dar, da dieses Enzym zur Catecholamininaktivierung beiträgt und SH-Gruppen besitzt, welche durch Quecksilber inaktiviert werden könnten. Zur Untersuchung dieser Möglichkeit wurden Versuche mit Methylquecksilber durchgeführt, welche eine Bestimmung der Monoaminoxidase-Aktivitäten und der korrespondierenden Quecksilber-Konzentrationen im Gewebe einschließen.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Monoaminoxidase (MAO)

Die Monoaminoxidase wird nach den "Recommendations (1972) of the COMMISSION ON BIOCHEMICAL NOMENCLATURE on the Nomenclature and Classification of Enzymes" als "Monoamine:O₂ oxidoreductase deaminating" bezeichnet und trägt die Klassifizierungsnummer "E.C. 1.4.3.4.".

1.1. Eigenschaften der Monoaminoxidase

Aminoxidasen katalysieren die Reaktion



In Gegenwart von Katalase wird das Peroxid gespalten, so daß in der Bilanz nur 1 Atom Sauerstoff nötig ist. Die entstehenden Aldehyde werden in vivo durch Aldehyddehydrogenasen zu Carbonsäuren oder Alkoholdehydrogenasen zu Alkoholen weiter umgesetzt (97).

Auch Diaminoxidasen katalysieren die oxidative Desaminierung von Monoaminen und Monoaminoxidasen die von Diaminen (140). Durch geeignete Behandlung, z.B. mit Kupfersulfat werden Monoaminoxidase und Diaminoxidase "transformiert", d.h. sie setzen dann auch das Substrat des anderen Enzyms um (105, 4). Eine Trennung beider Enzyme wird anhand ihrer Inhibitoren vorgenommen: Monoaminoxidase wird durch bestimmte Carbonylreagentien (Semicarbazid, Isoniazid, Aminoguanidin) und Cyanid relativ wenig gehemmt, wohl aber durch Octylalkohol. Diaminoxidasen können durch Octylalkohol kaum, aber durch Carbonylreagentien deutlich gehemmt werden.

Zu den Monoaminoxidasen zählt noch die Amphetamin-oxidase, zu den Diaminoxidasen gehören die Sperminoxidase und die Meskalinoxidase (97).

Das Molekulargewicht der Monoaminoxidase wird mit 102000 (123), 115000 (84), 155000 (137), 170000 (3), 230000 (136) und 400000 (70) recht unterschiedlich angegeben. Dabei handelt es sich offenbar um Untereinheiten bzw. Polymere (34). Möglicherweise spielen dabei auch Herkunft und Reinheit von Enzympräparationen eine Rolle. Sie beeinflussen übrigens auch die Stabilität der Präparationen (97).

Eine Flavinkomponente als Coenzym der Monoaminoxidase war lange Zeit umstritten, bis sie in den letzten Jahren in mehreren Organen nachgewiesen werden konnte, so in Schweinegehirn (123, 124), im Rindergehirn (41, 42), in der Schweineleber (84), in Rinderleber (73) und in der Rinderniere (25). TIPTON (124) brachte FAD-freies Monoaminoxidase-Apoenzym mit FAD zusammen, das dadurch reaktiviert wurde. In Plasma-Monoaminoxidase wurde Kupfer als prosthetische Gruppe festgestellt (132).

Der Flavin-Anteil wurde isoliert (129) und dann synthetisch hergestellt (32). Es handelt sich um 8-(S-cysteinyl)-Riboflavin. Das Flavin steht in 8 α -Stellung am Cystein folgender Aminosäuresequenz: Ser-Gly-Gly-Cys-Tyr (54).

Die Aktivität der Monoaminoxidase ist vom Partialdruck des Sauerstoffs abhängig. Sie sinkt mit dem Sauerstoffdruck. In reiner O₂-Atmosphäre ist sie dreimal so hoch wie in normaler Luft (48, 97).

Das pH-Optimum ist abhängig von Herkunft und Reinheit des Enzympräparates sowie vom Substrat. Nach PLETSCHER et al. (97) schwankt es zwischen 6,2 und 9,0. NAGATSU et al. (70) fanden für Phosphatpuffer den Wert 7,4 und für Tris-Puffer 9,0. Große Aktivitätsunterschiede bestehen zwischen den Enzymen verschiedener Organe und Tierarten (48, 49).

Die Aktivität ist im Herz von Ratten viel höher als bei Hund und Katze; dagegen ist sie in der Rattenniere niedriger als bei den meisten anderen Tierarten. In der Speicheldrüse des Menschen ist sie zehnfach höher als bei der Katze. Für die Existenz homologer Enzyme spricht, daß die Monoaminoxidasen gleicher Organe verschiedener Tierarten und in verschiedenen Organen im selben Tier zu den einzelnen Substraten eine verschiedene Affinität haben. Extrakte aus Meerschweinchenleber, -darm und -niere bauen Tyramin und Tryptamin gleich gut ab, bei der Katze greifen Extrakte aus den gleichen Organen das Tyramin besser an. Monoaminoxidase aus dem Blut von Menschen ist von anderen Monoaminoxidasen in ihrer Substrat-Affinität und in ihren Hemmstoffen deutlich verschieden (66). Im Rattengehirn wurden mehrere Monoaminoxidasen elektrophoretisch nachgewiesen, wobei allerdings nicht geklärt werden konnte, ob es sich um Isoenzyme oder Polymere eines Enzyms handelte (37). In Rattenlebermitochondrien gibt es spezifische Monoaminoxidasen für Serotonin, Tyramin (43) und Benzylamin (109), die elektrophoretisch differenziert werden können. Menschenleber- und Rattenleber-Monoaminoxidase sind verschieden (21). Außer den genannten gibt es zahlreiche Arbeiten mit ähnlichen Ergebnissen (34, 37, 66, 101, 111, 134). In diesem Zusammenhang sei auf die Monographien über Monoaminoxidase von PLETSCHER et al. (97), HOLTZ und PALM (48) und GORKIN (36) hingewiesen. Weitere Enzymunterschiede lassen sich anhand von Konfigurationsunterschieden der Substrate nachweisen: L-Adrenalin wird von Monoaminoxidase aus Meerschweinchenleber doppelt so schnell abgebaut wie D-Adrenalin, D- β -Hydroxyphenyläthylamin schneller als das L-Isomere. Dagegen kann Monoaminoxidase aus Kaninchenleber letztere nicht unterscheiden. D-Amphetamin hemmt Monoaminoxidase im Gehirn, der Parotis und der Glandula submaxillaris des Menschen doppelt so stark wie das L-Amphetamin (97).

1.2. Verteilung der Monoaminoxidase im Organismus

Monoaminoxidase existiert in allen Organen und Geweben. In der Monographie von PLETSCHER et al. (97) findet sich Tabelle 1.

Der Abbau von Tyramin in der Kaninchenleber wurde schon 1937 nachgewiesen (92). 1939 wurde die Aktivität von Aminoxydasen in der Leber von Menschen und vielen Tierarten, darunter Hund, Schwein, Ratte und Rind von RICHTER und TINGEY gemessen (102), im gleichen Jahr im Gehirn des Menschen (11). BIRKHÄUSER verglich 1940 die Aktivität in verschiedenen Regionen des Gehirns (12) und fand folgende Verteilung: Thalamus > Nucleus caudatus > Putamen > Pallidum > Rinde. Histochemisch fand man Monoaminoxidase in der grauen Substanz, besonders perinukleär, nicht aber in den Zellkernen, Nerven und Gliazellen. Die Monoaminoxidase im Ganglion cervicale superficiale hat YANG untersucht (134). Monoaminoxidase-Präparationen aus Leber- und Gehirn-Mitochondrien sind die bevorzugten Enzymquellen zu Untersuchungen.

Bei der Messung der Monoaminoxidase (und Catechol-O-Methyltransferase) in der Kaninchenaorta wurden die größten Aktivitäten der Monoaminoxidase in der Tunica media gefunden (127).

Im menschlichen Uterus liegt die Monoaminoxidase-Aktivität vor allem im Endometrium. Placenten von Menschen, Ratten, Kaninchen und Meerschweinchen enthalten gleichfalls hohe Monoaminoxidase-Mengen, die mit der Entwicklung des Organs zunehmen (65, 119).

In der Nebenniere wurde zwar Monoaminoxidase, aber keine Diaminoxidase gefunden (60).

Tab. 1 : Monoaminoxidase-Aktivität in verschiedenen Organen ($\mu\text{l O}_2/\text{g}$ Frischgewicht und Stunde)

Organ	Mensch	Species: Rind, Schaf, Kaninchen, Maus
Leber	1027 1618	795 615 960 2700
Lunge	339	
Gehirn		25 87 760
Niere gesamt		654 554 443
Rinde	560	
Mark	246	
Herz		52 6
Skelettmuskel	147	
Aorta		332
Größere Arterien		307
Nebennierenmark		etwa 160
Ganglion stellatum		etwa 1600
Pankreas		17
Milz		97 211
Darm		278 165
Uterus	111	
Schilddrüse		43

(Die Werte stammen von verschiedenen Autoren).

Im Bindegewebe soll die Monoaminoxidase für die Verbindung von Kollagen und Elastin verantwortlich sein (93). Außer in Bindegewebe wurde sie in Haut, Knochen und Rinderzahnpulpa nachgewiesen (71).

Innerhalb der Zelle ist die Monoaminoxidase strukturgebunden, und zwar größtenteils an die Mitochondrien. Etwa 70 bis 77 % befinden sich dort (36). Deshalb beeinflusst der Zustand der Mitochondrien auch ihre Aktivität. Anschwellen der Mitochondrien erhöht die Oxidation von Tyramin ca. um das Zehnfache. In den Mitochondrien befindet sich die Monoaminoxidase auf der äußeren Membran (99). Auch andere Untersuchungen ergaben eine Lokalisation auf der äußeren (121) und zwischen der äußeren und der inneren Membran (122). Von anderen Autoren ist Monoaminoxidase auch auf der inneren Membran festgestellt worden (38, 100).

1.3. Monoaminoxidase im Stoffwechsel

Die Substrate der Monoaminoxidase im Stoffwechsel lassen sich in drei Gruppen einteilen (97):

1. Dopamin und Tyramin mit einem Umsatz von 66 - 100 %,
2. 3-Methoxytyramin, Tryptamin, 5-Hydroxytryptamin (= Serotonin), Isoamylamin mit einem Umsatz von 34 - 65 % und
3. Phenyläthylamin, Normetanephrin, Metanephrin, Adrenalin, Noradrenalin, N-Methylhistamin, Kynuramin mit einem Umsatz von 1-33 %.

Primäre und sekundäre Amine werden gleich gut desaminiert, während tertiäre Amine kaum und quartäre gar nicht umgesetzt werden. Bei sekundären und tertiären Aminen entsteht (anstatt des Ammoniaks bei primären) ein Alkylaminrest.

Substrate und kompetetive Hemmstoffe der Monoaminoxidase benötigen zur optimalen Reaktion mit dem Enzym einen aromatischen Ring, eine zweigliedrige Seitenkette und die Aminogruppe (138).

Im 5-Hydroxytryptamin-Stoffwechsel katalysiert Monoaminoxidase den Schritt zum 5-Hydroxyindolacetaldehyd. Bei Vorliegen einer Hemmung entstehen andere Serotonin-Derivate.

Im Abbau des Tryptophans bewirkt Monoaminoxidase analog zum Serotonin die Umwandlung vom Tryptamin zu Indolacetaldehyd. Im Falle einer Enzymhemmung erscheinen das Amin oder seine Vorläufer vermehrt im Urin.

Im Stoffwechsel der Catecholamine hat die Monoaminoxidase zahlreiche Aufgaben. Beim Abbau des Phenylalanin katalysiert sie den Schritt vom Phenyläthylamin zur Phenylelessigsäure, beim Abbau des Tyrosin den Schritt vom Tyramin zur p-Hydroxyphenylelessigsäure, weiterhin den Schritt vom Dopamin zur Homoprotocatechusäure, den Schritt vom 3-Methoxytyramin zur Homovanillinsäure, den Schritt vom Normetanephrin und Metanephrin zur 3-Methoxy-4-hydroxy-mandelsäure und schließlich den Schritt vom Adrenalin zur 3,4 -Dihydroxy-mandelsäure (18). Bei einer Monoaminoxidase-Hemmung ist die Ausscheidung von 3-Methoxy-4-hydroxy-mandelsäure, Homovanillinsäure, 3,4 -Dihydroxy-Mandelsäure, 3,4 -Dihydroxyphenylelessigsäure, 3-Methoxy-4-hydroxy-phenylglykol und -äthanol im Urin zwar vermindert, aber nicht aufgehoben, da dieselben Reaktionen im Catecholaminstoffwechsel wie die Monoaminoxidase auch von der Aldehydoxydase katalysiert werden. Tryptamin, Tyramin und Phenyläthylamin erscheinen bei einer Monoaminoxidase-Hemmung vermehrt im Urin (97).

Die Hauptaufgabe des Enzyms scheint - gemessen an der Affinität zum Substrat - in der Desaminierung des Dopamin zu bestehen. Jedenfalls ist der Einfluß der Monoaminoxidase auf die totale Aminkonzentration des Körpers gering.

Um die Aufgaben der Monoaminoxidase im sympathischen Nervensystem zu verstehen, muß man sich die Beschaffenheit der adrenergen Nervenendigung vergegenwärtigen. Dort liegen intrazellulär zwei Speicherdepots vor, ein cytoplasmatisches und ein granuläres. Nur im cytoplasmatischen Depot sind die Catecholamine für die Monoaminoxidase erreichbar. Durch physiologische Reize und Reserpin werden adrenerge Transmittersubstanzen aus den granulären Depots freigesetzt. Bei einer Monoaminoxidase-Hemmung entsteht eine adrenerge Reaktionslage, da aus den granulären Depots freigesetzte Catecholamine nicht abgebaut werden. Deshalb kann auch Reserpin unter diesen Umständen eine adrenerge Reaktion hervorrufen (sog. Reserpinumkehr) (48).

Die Monoaminoxidase-Aktivitätsabnahme in der Nickhaut von Katze und Kaninchen nach einer sympathischen Denervierung gleicht sich nach ein paar Tagen wieder aus (14, 104). Daraus meinen die Autoren ableiten zu können, daß die Monoaminoxidase an den adrenergen Nervenendigungen die gleiche Aufgabe erfüllt, wie die Cholinesterase an den cholinergen. Aber die Monoaminoxidase wirkt, wie oben erklärt, innerhalb der Zelle, und nicht, wie die Cholinesterase, am extrazellulär vorliegenden freigesetzten Transmitter.

Eine weitere Aufgabe der Monoaminoxidase (und der Diaminoxidase) ist die Inaktivierung von Nahrungs- und Bakterienaminen in der Darmwand. Eine Hemmung der Monoaminoxidase hebt diese Schutzwirkung auf und erhöht die Wirkung der exogenen Amine. Ein Beispiel für ein exogenes Amin ist das im Käse vorhandene Tyramin (*Typos*= Käse). Bei Monoaminoxidase-Hemmung kann dieses die Darmwand in größerer Menge

passieren und den endogenen Anstau adrenerger Amine noch erhöhen.

1.4. Monoaminoxidase-Hemmstoffe

Die zufällige Entdeckung, daß Iproniazid, ein Mittel gegen Tuberkulose, eine Monoaminoxidase hemmende und somit antidepressive Wirkung hat (139), ließ die Wissenschaftler nach weiteren Monoaminoxidase-Hemmstoffen suchen, zumal sich Iproniazid und andere Hemmstoffe als hepatotoxisch erwiesen hatten (33). Das Ergebnis dieser Bemühungen ist in verschiedenen Übersichten beschrieben (33, 96, 97, 98). Inzwischen lassen sich die Monoaminoxidase-Hemmstoffe in vier Hauptgruppen zusammenfassen: Hydrazinabkömmlinge (darunter Iproniazid), einfache und substituierte Amine, bestimmte heterozyklische Stickstoffverbindungen und andere Inhibitoren (Amphetamin, Cholintolyläther, Octylalkohol) (98).

Nach ihrer Wirkungsweise unterscheidet man kompetitive und nicht kompetitive Hemmstoffe. Kompetitiv wirken zum Beispiel Hydrazine, Ephedrin und Amphetamin (sie haben strukturelle Ähnlichkeit mit Catecholaminen) sowie Nikotin. Zu den nicht kompetitiven Hemmstoffen zählen Mono- und Polyamidine, Diguandine, Lokalanästhetika, Antihi-staminika u.v.a. (97). Auch Atebrin und Methylenblau werden erwähnt.

Über das Wirkungsbild der verschiedenen Monoaminoxidase-Hemmstoffe ist folgendes bekannt: Die einzelnen Monoaminoxidase-Hemmstoffe haben verschiedene Wirkungsstärken und hemmen das Enzym in manchen Organen selektiv. p-Tolylcholinäther z.B. macht eine Hemmung im ganzen Körper, ausgenommen in Leber und Gehirn. Pentamidin hemmt nur in der Leber, nicht im Gehirn. Unsubstituierte Aralkkyamine wirken mehr auf die Monoaminoxidase des Gehirns als die der Leber, obwohl auch letztere merklich beeinträchtigt wer-

den. Im allgemeinen verschiebt die Substitution am aromatischen Ring die Spezifität des Hemmstoffes in Richtung Leber-Monoaminoxidase. Meistens wird jedoch die Hemmwirkung stark herabgesetzt, wenn nicht verhindert.

Die Wirkung des Iproniazid braucht eine Anlaufzeit, während die des Pheniprazin sehr schnell eintritt. Beide wirken gleich stark auf die Leber-Monoaminoxidase; die Gehirn-Monoaminoxidase wird dagegen von Pheniprazin schneller, von Iproniazid langsamer angegriffen.

Die wirksame Substanz bei Iproniazid scheint ein Stoffwechselmetabolit zu sein, denn die Wirkung dauert länger an als Iproniazid im Organismus nachzuweisen ist.

Die L-Form des Iproniazid ist in vivo viel wirksamer als die D-Form. Ein Autor (98) bemerkt dazu, daß ein Transportsystem im Körper die L-Form bevorzugen könnte.

Hydrazine scheinen als Pseudoamine zu wirken (97), denn sie greifen an der gleichen Stelle des Enzymmoleküls an wie die Substrate. In Gegenwart von Substraten ist die hemmende Wirkung geringer: offenbar liegt also eine kompetitive Hemmung vor. In vivo wirken Hydrazine in Leber, Niere, Gehirn, Darm, Herz, Lunge und Aorta. Die Wirkungsdauer beträgt Tage bis Wochen, abhängig von Dosis und Organ. Das Nachlassen der Wirkung ist organspezifisch, z.B. im Gehirn langsamer als in der Leber.

Der stärkste Monoaminoxidase-Hemmstoff unter den Nicht-Hydrazinen ist das Tranlylcypromin. Es stellt einen Cyclopropanring mit einer substituierten Aminogruppe und einer aromatischen Komponente in 2-Stellung dar (98).

Harmalin und verwandte Stoffe wirken stärker als

Iproniazid. Die 50%-Inaktivierung von Serotonin wird schon bei einer Harmalin-Konzentration von 10^{-6} M erreicht. Die Wirkung tritt schneller ein, dauert aber nicht so lange wie die des Iproniazid. Sie ist reversibel sowohl in vivo als auch in vitro (125).

Es gibt aber auch interferierende Wirkungen unter den Monoaminoxidase-Hemmstoffen. Harmalin, kurz vor Tranylcypromin oder Iproniazid gegeben, schützt das Enzym vor der irreversiblen Hemmung durch diese Stoffe. Es verbindet sich mit der Monoaminoxidase länger als Iproniazid, das relativ schnell inaktiviert wird, vorhanden ist.

Ein Monoaminoxidase-Hemmstoff, der weitgehend von Nebenwirkungen frei ist, ist Pargyline, das in vitro eine 100-fach stärkere Hemmung der Monoaminoxidase hervorruft als Iproniazid (48).

Furazolidon verursacht ebenfalls eine Hemmung der Monoaminoxidase und der Diaminoxidase (85, 95). 24 Stunden nach Applikation von 62 mg Furazolidon/kg Körpergewicht wurde bei Ratten eine 90 %ige Hemmung der Monoaminoxidase und eine 50 %ige der Diaminoxidase festgestellt. Beim Menschen bewirkt Furazolidon die typischen Symptome der Monoaminoxidase-Hemmung, die einer adrenergen Reaktionslage entsprechen. Dazu ist die Ausscheidung von 5-Hydroxyindolsäure mit dem Harn vermindert. Die pressorische Wirkung des Tyramins ist dabei 20-fach höher als normal. Außerdem tritt nach einer gewissen Zeit ein orthostatischer Kollaps ein, der bei Monoaminoxidase-Hemmung häufig auftritt (85). Die Blutdrucksenkung ist als Folge einer Erschöpfung im Anschluß an eine langdauernde Tonussteigerung des peripheren Kreislaufes zu interpretieren.

Die biologische Wirkung der Monoaminoxidase-Hemmstoffe, nämlich die Anreicherung der Amine, kann nur dort eintre-

ten, wo das Enzym tatsächlich für den Abbau vorwiegend verantwortlich ist. Die O-methyl-Transferase (OMT) kann ebenso Noradrenalin, Adrenalin oder Dopamin abbauen. Für den Abbau der beiden Catecholamine ist sie das wichtigste Enzym. Dopamin wird zu 20 % von der O-methyl-Transferase und zu 80 % von der Monoaminoxidase desaminiert (48).

Eine von der Enzym-Hemmung unabhängige Wirkung der Monoaminoxidase-Hemmstoffe ist die Erhöhung der Durchlässigkeit der Blut-Hirn-Schranke für die synthetische C^{14} - α -Aminoisobuttersäure nach Iproniazidgabe (48). Es wird vermutet, daß der beachtliche Anstieg von Serotonin durch den ebenfalls vermehrten Transport von 5-Hydroxy-tryptophan zu erklären ist. Dagegen ist die Aufnahme von Adrenalin und Serotonin in die Leber bei einer Monoaminoxidase-Hemmung erniedrigt.

Die bedeutendste Wirkung der Monoaminoxidase-Hemmstoffe ist jedoch die Erhöhung des Serotonin- und Noradrenalin-spiegels im Gehirn. Dies ist nachgewiesen bei Mensch, Affe, Kaninchen, Meerschweinchen, Huhn, Ratte, Maus und Küken. Bei folgenden Tierarten wird nur der Serotoningehalt des Gehirns erhöht: Hund, Katze und Frosch (48, 98, 107).

Über die Wirksamkeit verschiedener Hemmstoffe orientiert Tabelle 2.

Pargyline verursachte beim Kaninchen in einer Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht innerhalb einer Stunde eine vollständige Blockierung. Der Serotonin-Gehalt des Gehirns war um 100 % gestiegen, der Noradrenalingehalt nach 5 Stunden um 30 %. Die Hemmung bestand noch nach 3 Tagen zu 90 % (48). Die Verabreichung von 25 mg Pargyline/kg Körpergewicht über 5 Tage führte beim Kaninchen im Gehirn zur Steigerung des Serotonin um 500 % und des Noradrenalin um 100 %, zu Mydriasis, Konstriktion der Ohrgefäße, zu Anstieg der mo-

Tab. 2 : Wirksamkeit verschiedener Monoaminoxidase-Hemmstoffe (98)

Hemmstoff	Gewebehomogenat	Molarität für 50 % Hemmung
Iproniazid	Mäuseleber	8×10^{-5}
Pheniprazin	"	$1,5 \times 10^{-5}$
Phenelzin	"	$2,5 \times 10^{-5}$
Isocarboxazid	"	$3,0 \times 10^{-5}$
Benzylhydrazin	"	$1,3 \times 10^{-6}$
N-benzyl-N-iso-propylhydrazin	"	$1,0 \times 10^{-3}$
Oxalsäure	Meerschweinchenleber	$5,0 \times 10^{-5}$
Iproniazid	Rattenleber	$1,0 \times 10^{-3}$
Harmin	"	$2,0 \times 10^{-6}$
Pheniprazin	"	$1,0 \times 10^{-6}$
Tranlylcypromin	"	$5,0 \times 10^{-6}$
Nialamid	"	$1,0 \times 10^{-5}$
Amphetamin	"	$1,0 \times 10^{-3}$

torischen Aktivität und Überempfindlichkeit gegen akustische Reize (48).

In den Thrombozyten verursachten Monoaminoxidase-Hemmstoffe einen Anstieg des Serotonin-Gehalts. Die Reserpin-Umkehr läßt sich hier nur nachweisen, wenn das Blut nach der Entnahme mit Monoaminoxidase-Hemmstoffen inkubiert wird (98).

Monoaminoxidase-Hemmstoffe heben auch den Blutspiegel von Pyruvat und Lactat. Dies ist nachgewiesen für Iproniazid, Tranlylcypromin und Harmalin an Ratten. Bei jedem dieser Hemmstoffe hat der Säureanstieg einen charakteristischen zeitlichen Verlauf: Iproniazid verursacht einen langsamen Anstieg über 12 Stunden. Nach 4 Tagen sind wieder 150 % des Normalwerts erreicht. Tranlylcypromin macht einen sofortigen Anstieg, der ebenfalls nach 4 Tagen auf 150 % der Norm zurückkehrt. Harmalin erhöht innerhalb von 2 bis 3 Stunden die Säuren auf Höchstwerte, die aber nach 15 Stunden wieder abgebaut sind.

Auch Diaminoxidase wird von einigen Monoaminoxidase-Hemmstoffen inhibiert, vor allem von den Hydrazinen, während andere gar nicht oder nur in sehr hohen Konzentrationen wirken. Dasselbe gilt für die 5-Hydroxytryptophandecarboxylase. Beispielsweise verhindern hohe Dosen von Phenelzin die Bildung von Serotonin aus 5-Hydroxytryptophan. Wahrscheinlich beeinflussen die Monoaminoxidase-Hemmstoffe das Coenzym der Decarboxylase (98). Andere Autoren (39) fanden dagegen bei einer 5-Hydroxytryptophan-Injektion nach Monoaminoxidase-Hemmung einen hohen Serotoninanstieg.

Monoaminoxidase ist schon lange als Enzym, das Sulfhydryl-Gruppen enthält, bekannt (28, 110). Deshalb wurde bald die Frage nach der Reaktion des Enzyms mit Schwermetallen gestellt. Sehr ausführlich beschäftigt sich damit eine Arbeit (59), in welcher die Wirkung der verschiedensten Schwermetallverbindungen auf die Rattenleber-Monoaminoxidase untersucht wurde. Untersucht wurde außerdem die Wirkung von KCl , K_2SO_4 , $NaCl$, Na_2SO_4 und $NHCl_4$, die aber alle in einer Konzentration von 0,01 M keinen Effekt auf die Monoaminoxidase hatten. Unwirksam waren auch $TiOSO$ (4×10^{-3} M), $Ce(SO_4)_2$ (5×10^{-3} M), $NaSeO_3$ (10^{-2} M) und $BaCl_2$ (10^{-3} M).

Die Schwermetallversuche ergaben eine Streuung der Hemmkonzentrationen über drei Zehnerpotenzen, so daß die Autoren das Vorhandensein mehrerer Mechanismen als erwiesen ansehen. Einige ausgewählte Werte stellt Tabelle 3 dar. Vier Metallsalze wurden intravenös verabreicht, von denen bekannt ist, daß sie bei chronischer Aufnahme nervöse Vergiftungssymptome verursachen. Es waren Quecksilberazetat (40 und 100 mg/kg Körpergewicht), Cadmiumchlorid (200 mg/kg), Mangansulfat (200, 400, 500 und 1000 mg/kg) und Bleiazetat (500 und 100 mg/kg). 30 bis 120 Minuten nach der Injektion wurden die Tiere getötet und auf Monoaminoxidase-Aktivität in Gehirn und Leber untersucht. Diese wurde nicht signifikant beeinflusst, obwohl (außer bei Bleiazetat) deutliche nervöse Vergiftungssymptome auftraten. Sehr geringe Konzentrationen der Metalle verursachten in Leberhomogenaten sogar eine Aktivierung der Monoaminoxidase. Die Autoren konnten diese Ergebnisse nicht erklären. Die Einzelwerte sind in Tabelle 4 dargestellt.

Noch viele andere Arbeiten beschäftigen sich mit der Hemmung der Monoaminoxidase durch Metallverbindungen. Ein Beispiel ist die Hemmung von Monoaminoxidase aus Rinderleber durch p-Mercuribenzoat (p-MB) (7), die in Tabelle 5 dargestellt ist.

Andere Autoren berichten über die Hemmung der Monoaminoxidase aus Rindergehirn (41) und Schweinegehirn durch p-Mercuribenzoat (123). Letztere wird jedoch nicht gehemmt, wenn p-Mercuribenzoat nach und nach zugegeben wird (35). HgCl_2 in der Konzentration von 0,23 mM hemmt Monoaminoxidase nicht, 1,0 mM dagegen zu 100 % (72). Schweinegehirn-Monoaminoxidase wird durch CuSO_4 in einer Konzentration von 10^{-3} M erst zu 12 % gehemmt (124). Dies gilt nur für Tyramin als Substrat (105). Fe^{3+} und Cu^{2+} hemmen die Schweinenieren-Monoaminoxidase (108). Ag^+ hemmt die Rindernieren-Monoaminoxidase (25).

Tab. 3 : Hemmwirkung von Schwermetallen auf die Monoamin-oxidase (59)

Verbindung	neg. log der Konzentration zur Hemmung von			Hemmeffekt von 10^{-3} M Salz
	20 %	50 %	80 %	
Hg-Azetat	3,77	3,44	3,35 3,40	
Ag-Nitrat	3,62	3,37	3,12	80 %
	3,40	3,00	2,72	77 %
Cd-Chlorid	3,00			61 %
	3,70	3,40	3,08	
Al-Sulfat		3,15		3-38 %
Pb-Acetat	3,50			100 %
Cu-Chlorid		1,30		0 %
	2,90	2,22	1,92	
Mn-Sulfat	3,00			75 %
	2,00			
	2,50			
Se-Oxid	2,30			
Zn-Sulfat		3,00		86 %
Ni-Chlorid	3,00			

Tab. 4 : Aktivierung der Monoaminoxidase durch Metallionen

Verbindung	M/l	% der Kontrolle
Cu-Chlorid	10^{-6}	120
Cu-Sulfat	$2,5 \times 10^{-5}$	133
Cu-Sulfat	10^{-4}	108
Ag-Nitrat	10^{-4}	112
Gd-Chlorid	10^{-4}	138
Hg-Azetat	$5,0 \times 10^{-7}$	115
Hg-Azetat	$5,0 \times 10^{-6}$	142
Sn-Chlorid	$5,0 \times 10^{-3}$	112
Na-Selenit	$5,0 \times 10^{-6}$	108
U-Azetat	$5,0 \times 10^{-6}$	149
Co-Nitrat	$5,0 \times 10^{-3}$	141
Fe-Sulfat	10^{-6}	116
Fe-Sulfat	10^{-5}	123

Tab. 5 : Hemmung der Rinderleber-Monoaminoxidase durch p-Mercuribenzoat (in μ Mol)

p-Mercuribenzoat	Hemmung %
0,005	0
0,01	25
0,012	50
0,1	90
1,2	100

2. Methylquecksilber

Eines der vielen Umweltgifte neben DDT, DDE und polychlorierten Biphenylen ist das Methylquecksilber. Obwohl bisher nur Fälle mit örtlich begrenzten Auswirkungen bekannt geworden sind, stellt die Kontamination von Lebens- und Futtermitteln mit Methylquecksilber ein weltweites Problem dar.

2.1. Methylquecksilber in der Umwelt

Untersuchungen an menschlichen Geweben und Organen aus den Jahren 1913 bis 1970 zeigten, daß der Gehalt an Quecksilber in dieser Zeit stark abgefallen war (56). Die Autoren führen dies auf eine "allgemeine Reinigung" der Umwelt des Menschen von Quecksilber zurück. Der Quecksilber-Gehalt von Fischen, die vor 50 bis 100 Jahren gefangen worden waren (Museumsausstellungsstücke), ist vergleichbar mit dem der Fische, die heute in Gewässern ohne Quecksilberbelastung gefangen werden (131).

Inzwischen wurden wiederholt Vergiftungen durch Methylquecksilber bei Menschen und Tieren bekannt. Der bisher spektakulärste Fall war die Katastrophe an der Minimata-Bucht in Japan, wo 121 Personen schwer erkrankten, von denen 46 starben. 1953 traten die ersten Fälle auf. Ursache für die Methylquecksilberverseuchung waren die ungeklärten Abwässer einer chemischen Fabrik, die Methylquecksilber als Katalysator für die Kunststoffherstellung verwendete. Die Firma bestritt hartnäckig ihre Schuld an dem Unglück. Es kam zu Unruhen und Fabrikbesetzungen. Eine Entscheidung brachten erst wissenschaftliche Untersuchungen und ein Gerichtsurteil im Jahre 1973 (74, 83, 117). Ebenfalls in Japan, in Niigata, traten noch einmal über 120 Vergiftungsfälle mit 5 Todesfällen auf. Da die Symptome der Methylquecksilbervergiftung mit denen anderer Krankheiten zu verwechseln sind, gab es auch hier trotz der Er-

fahrungen von Minimata Diagnoseschwierigkeiten (62, 74, 83).

In Schweden wurde Methylquecksilber als Dicyanamid in den 1940er Jahren als Beizmittel gegen Pilzkrankheiten im Saatgut benutzt. Körner aufpickende Vögel reicherten dabei letale Dosen an. Raubvögel fraßen die Quecksilber enthaltenden Friedvögel und vergifteten sich dabei gleichfalls. Ein zweiter Weg, auf dem Methylquecksilber die Vögel schädigte, war der Übergang des Giftes in ihre Eier. Aber auch an Hühner und Schweine war das gebeizte Saatgut verfüttert worden. So war Quecksilber in Nahrungsmittel gelangt, die vor allem in Entwicklungsländern zum Verzehr kamen (40, 62, 83, 118). Schließlich ist gebeiztes Saatgetreide irrtümlich als Brotgetreide verwendet worden (63).

Weiterhin stellte man 1964 und 1965 in Schweden und Finnland fest, daß Fische in manchen Gewässern hohe Methylquecksilbermengen enthielten. Hier stammte das Quecksilber von der überall in Skandinavien ansässigen Zelluloseindustrie, wo es gegen Schimmelpilze eingesetzt wurde (63).

Es gibt eine natürliche geologische, örtlich unterschiedliche Kontamination der Gewässer mit Quecksilber (131).

Anorganisches Quecksilber kann von Anaerobiern, vor allem im Bodenschlamm, methyliert werden (26). Dies gilt für praktisch alle Quecksilberverbindungen (1, 52, 62, 63, 74, 100, 131).

Zur Abhilfe wurden in Skandinavien rigorose gesetzliche Maßnahmen und Fischverbote für die gefährdeten Gewässer erlassen. Außerdem wurde der erlaubte Höchstwert für Quecksilber in Fischfleisch auf 1,0 ppm festgesetzt. In den USA und Kanada, wo man noch keine Schäden, aber hohe Quecksilbergehalte in Fischen festgestellt hat, ist die

Grenze 0,5 ppm. Lebensmittelhygieniker aber fordern schon 0,2 ppm als Toleranzgrenze (62). Auch deutsche Flüsse führen beachtliche Mengen von Quecksilber und anderen Schwermetallen mit sich (6).

Methylquecksilber wird in der Nahrungskette angereichert. Es tritt u. a. in Kleinlebewesen, z.B. Plankton, über, welche von Muscheln, Fischen etc. aufgenommen werden. Diese fallen Raubfischen, Seehunden oder Raubvögeln zum Opfer und reichen dabei ihr Quecksilber an den Räuber weiter. Da im Laufe der Zeit die biologische Masse der Gefressenen größer als die der Räuber und die biologische Halbwertszeit des Methylquecksilber sehr lang ist, reichert sich das Gift in jedem Glied der Nahrungskette weiter an. Dazu kommt noch, daß die quecksilberbelasteten Individuen krank oder mindestens beeinträchtigt sind. So fallen sie den Räubern leichter zum Opfer, d.h., daß diese die am stärksten kontaminierten Beutetiere "auslesen" (83). In der Minimata-Bucht wurde das Methylquecksilber in Muscheln und Fischen angereichert, die dort das Hauptnahrungsmittel darstellen (117).

2.2. Methylquecksilber im Stoffwechsel

Untersuchungen über die Verteilung des Quecksilbers im Organismus zeigten, daß sich die relativ höchsten Mengen in der Niere finden. Bedeutend weniger kommen in der Leber vor. Danach folgt die Muskulatur; relativ wenig wird im Gehirn gefunden. Ein Bild davon gibt Tabelle 6.

Eine andere Arbeit (126) verfolgte die Verteilung von Quecksilber in mehreren Organen über einen längeren Zeitraum nach einmaliger Verabreichung von Methylquecksilberhydroxid wie in Tabelle 7 dargestellt.

Nach einer einmaligen Gabe von 0,5 mg Methylquecksil-

Tab. 6 : Quecksilbergehalte von Organen nach 15tägiger Methylquecksilber-Verabreichung

Organ	Hg-Gehalt (ppm)	
	PEKKANEN et al.(89)	KLEIN et al. (58)
Gehirn	26,0	40
Leber	124,6	140
Muskulatur	39,1	n.b.
Niere	n.b.	230
Milz	n.b.	150

n.b. = nicht bestimmt

Tab. 7 : Verteilung von Quecksilber in mehreren Organen nach einmaliger Gabe von Methylquecksilberhydroxid

Dosis ng/kg Körpergewicht	Tage	Hg in ng/g Naßgewicht			
		Leber	Niere	Cerebrum	Cerebellum
40	3	41	410	13	17
	6	38	490	13	13
	13	27	192	27	20
	24	18	150	32	15
400	3	444	2090	141	143
	6	407	2163	138	146
	13	105	1780	145	134
	24	147	1300	63	63
4000	3	4220	21830	1188	1247
	6	4160	21770	1487	1317
	13	4700	18100	1230	1140
	24	2400	12900	850	770

berdicyanamid/kg i.v. beobachtete man (10) bei der Maus eine Anreicherung von $^{203}\text{Quecksilber}$ nach einer Stunde in Niere und Leber. Nach 24 Stunden war es in allen Organen vorhanden, ausgenommen Knochen. Im Gehirn fand man nur wenig. Danach verschwand es mit der Zeit aus allen Organen. Nur im Zentralnervensystem nahm es noch zu.

Dabei liegt der größte Teil des Quecksilbers als Methylquecksilber vor, oft 99 %, auch wenn andere Quecksilber-Verbindungen aus der Umwelt aufgenommen wurden (62, 74, 77, 103, 131).

In den Körpergeweben unterliegt anorganisches Quecksilber zum Teil der Transformation in organisches (27, 76, 81, 115), obwohl sie als sehr langsam beschrieben wird (9, 29). Cystein stabilisiert die Alkylquecksilberverbindungen (81). Die Rate der Transformation ist dosisabhängig (77), sie ist bei kleineren Dosen relativ höher als bei größeren. Der Gehalt der Niere an Quecksilber ist von der Transformation abhängig, der des Gehirns ist es nicht. Dies läßt den Schluß zu, daß in der Niere vor allem anorganisches Quecksilber gespeichert ist (77). Einen Eindruck davon vermittelt Tabelle 8 (115):

Tab. 8 : Prozentuale Verteilung von anorganischem und organischem Quecksilber nach Verabreichung von Äthylquecksilber

Organ	nach Tagen	org.	anorg.
Leber	2	93,7	6,3
	8	93,8	6,2
Niere	2	82,5	17,5
	8	65,9	34,1

NORSETH (77) fand nach langfristigen Alkyl-Quecksilber-Gaben (0,5 mg Hg jeden 3. bis zum 36. Tag pro Injektion) die größten Quecksilber-Gehalte an organischem Quecksilber in der Leber nach ca. 40 Tagen, in der Niere nach ca. 25 Tagen. Die höchsten Werte an anorganischem Quecksilber in der Leber wurden am 40., in der Niere am 50. Tag gemessen.

Methylquecksilber überschreitet die Blut-Liquor-Schranke sehr schnell und leichter als andere organische und anorganische Quecksilber-Verbindungen. Tod nach neurologischen Symptomen wurde an Mäusen und Katzen bei Konzentrationen von mehr als 30 ppm Quecksilber im Gehirn festgestellt (74).

Subzellulär findet man bei Methylquecksilbervergiftungen organisches Quecksilber vor allem an die Mikrosomen und Mitochondrien gebunden (79). Die Bindung an subzelluläre Strukturen ist im Gehirn größer als in der Leber oder im Blut (16, 45).

Selbst bei oraler Aufnahme ist Methylquecksilber sehr schnell in den Erythrozyten vorhanden, und zwar in sehr viel größerer Konzentration als im Plasma (2, 29, 74, 80).

Als Angriffspunkt der Alkylquecksilberverbindungen an biologischem Material werden einheitlich die Sulfhydryl-Gruppen der Proteine beschrieben (22, 86). Die Reaktion der Methylquecksilberstoffe ist sogar so spezifisch, daß sie benutzt wird, SH-Gruppen in Geweben und Proteinen zu bestimmen (31, 53, 61, 89, 112).

Der Hauptausscheidungsweg des Quecksilbers nach Methylquecksilberaufnahme sind die Faeces. Etwa 80 % vom aufgenommenen Quecksilber verlassen so den Körper (24, 74, 82). Eine wichtige Quelle für Quecksilber in den Faeces sind die Gallensäfte, wo es als Methylquecksilber-Cystein-Komplex, als an Protein gebundenes Methylquecksilber oder als an

Protein gebundenes anorganisches Quecksilber vorkommt. Methylquecksilber-Cystein wird sehr rasch wieder reabsorbiert. Das an Proteine gebundene anorganische Quecksilber wird ausgeschieden und stellt etwa 15 bis 20 % des gesamten ausgeschiedenen Quecksilbers dar; das an Protein gebundene Methylquecksilber wird noch im Darm teilweise in anorganisches umgewandelt, so daß der Gehalt an anorganischem Quecksilber im oberen Teil der Darmwege relativ geringer ist als in den unteren Teilen. Ein sehr wichtiger Ausscheidungsweg ist das abgeschilferte Epithel der Verdauungswege, wo Methylquecksilber an Strukturproteine gebunden vorliegt. Hier ist bei Tierversuchen zu beachten, daß bei Ratten der Umsatz von Epithelzellen fünfmal so hoch ist wie beim Menschen (8). Aber auch das Quecksilber im abgeschilferten Epithel wird im Darm zum größten Teil in anorganisches Quecksilber "transformiert". Weiterhin kann Quecksilber in den Faeces noch aus dem Pankreassekret, dem Mageninhalt oder aus dem Plasmaabbau stammen (82).

Hühner, die mit methylquecksilberhaltigem Futter gefüttert werden, scheiden Quecksilber auch in Eiklar und Eidotter aus (57).

Bei Ratten stellt sich bei 1 bis 5 ppm Methylquecksilber im Futter nach etwa 6 Monaten ein Gleichgewicht zwischen Aufnahme und Ausscheidung ein (8).

Die biologische Halbwertszeit des Methylquecksilber liegt beim Menschen um 70 - 74 Tage, bei Mäusen bei 3-7 Tagen und bei Ratten werden 15 - 70 Tage angegeben (2, 74, 83). In Ringelrobben wurde sogar eine Halbwertszeit von 500 Tagen festgestellt (120). Beim Menschen wurde die Ausscheidung auf etwa 1 % pro Tag geschätzt (74).

2.3. Klinisches Vergiftungsbild

Die Symptome der Methylquecksilbervergiftung sind eindeutig nervöser Art. Erstmals wurden sie 1940 beschrieben (50). Sie beginnen mit einer Abschwächung des Hautsinns in den distalen Teilen der Extremitäten, Lippen und Zunge, gefolgt von undeutlichem Sprechen, unkoordiniertem Gang, Schlingbeschwerden, Taubheit, Beeinträchtigung der Sehschärfe und des Sichtfeldes.

Die klinischen Symptome entwickeln sich nach einer Latenzzeit von 1 - 2 Monaten nach Aufnahme von Methylquecksilber in entsprechenden Mengen. Die Stärke der Symptome ist abhängig von der Stärke der Exposition. In leichten Fällen können einige Symptome fehlen. Genauso kann eine teilweise Erholung in leichten Vergiftungsfällen eintreten (62, 74, 83).

Die mentalen Störungen treten als Depressionen, Exzitationen oder Schlaflosigkeit in Erscheinung. Sie hängen von der Zahl der zerstörten Gehirnzellen ab. Wenn zu viele in zu kurzer Zeit oder absolut zu viele vernichtet werden, können ihre Aufgaben nicht sofort oder gar nicht mehr von den anderen übernommen werden (62). Das Elektroencephalogramm war in fast allen Fällen anormal. Die Patienten sprechen zwar nicht undeutlich, aber zu laut, stoßweise und ungleichmäßig. Sie können in einem Gespräch mit mehreren die einzelnen Stimmen nicht auseinanderhalten und identifizieren. Durch diese Kommunikationsschwierigkeiten werden die Patienten oft für geisteskrank gehalten, obwohl die mentalen Störungen erst später auftreten (62).

Es wurden auch kongenitale Schäden festgestellt, da Methylquecksilber auch die Placentaschranke durchdringt. Ebenso sind Chromosomenbrüche bewiesen. In Japan wurden in 2 von 22 Fällen kongenitaler Methylquecksilbererkrank-

kungen Mißbildungen festgestellt, die nicht zu dieser Krankheit gehören, aber auch sonst sehr selten sind, so daß sie auf eine Chromosomenschädigung zurückzuführen sind (62, 83). Die teratogene Wirkung von Methylquecksilber wurde auch im Tierversuch bestätigt (51,113).

Tiere, auch an der Minimata-Bucht erkrankte Katzen und Hunde, zeigen Ataxien, unsicheres Laufen, Krämpfe, Tremor, Taubheit, Blindheit, Manegebewegungen und eigenartige Sprünge. Es wurden auch bewegungsgestörte Wasservögel und Fische beobachtet (18, 23, 44, 117). An Schweinen, die an einer experimentellen Methylquecksilberdicyanamid-Vergiftung litten, wurden außerdem Tachykardie und Exsikkose festgestellt (94). In einem Versuch an Ratten wurden die Auswirkungen einer akuten Methylquecksilbervergiftung untersucht (15, 58). Die Tiere bekamen an 7 Tagen bis zu einer Gesamtmenge 70 mg Hg/kg Körpergewicht Methylquecksilber injiziert. Die klinischen Symptome werden dort in 3 typische Stadien eingeteilt:

1. (Tag 1 bis 4) keine Erscheinungen
2. (Tag 5 bis 8) Gewichtsverluste
3. (Tag 9 bis 14) nervöse Erscheinungen

Bis zum 14. Tag hatten alle Tiere das "hind-limb-crossing-phenomen" (= Phänomen der gekreuzten Hinterbeine) entwickelt, das auftritt, wenn man die Tiere am Schwanz hochhält. In dieser Zeit waren die Hinterbeine schon schlaff und atrophisch und wurden nachgezogen, während die Vorderbeine keine entsprechenden Erscheinungen zeigten. Das Fell der Tiere war gelb und rauh. Sie saßen zusammengedrängt in einer Ecke des Käfigs, erschienen geschwächt und fraßen viel weniger als die Kontrollgruppe. Am 14. Tag hatten 7 von 10 Tieren Priapismus entwickelt.

2.4. Pathologisches Vergiftungsbild

Am proximalen Tubulusapparat der Niere bewirkt Methylquecksilberchlorid eine Funktionsminderung (46), an dem auch histopathologisch Schäden festgestellt wurden (44).

Lysosomenmembranen werden ebenfalls durch Methylquecksilber zerstört (87).

Trotz des im Vergleich zu anderen Organen geringen Quecksilber-Gehalts im Nervensystem und zentralen Nervensystem nach Quecksilber-Vergiftungen wirken sich die Veränderungen hier katastrophal aus, da zentrale Funktionen gestört werden (74).

Im peripheren Nervensystem schädigen organische Quecksilber-Verbindungen vor allem die sensiblen Fasern. Es kommt zu Proliferation und Degeneration der Schwann'schen Scheiden (68).

Im Großhirn werden Atrophien des Lobus occipitalis, in der Gegend der Fissura calcarina, der Medulla oblongata und anderer Teile des Gehirns beobachtet (83). Histopathologisch stellt man Zelldegeneration in der Großhirnrinde und Zerstörung der Körnerzellen des Kleinhirns fest. Demyelinisation, Ödeme und kleine Hämorrhagien sind weitere Zeichen (18, 67, 83).

In den Neuronen des dorsalen Wurzelganglions ist der focale cytoplasmatische Abbau die charakteristischste Störung nach Alkyl-Quecksilber-Vergiftung. Eine große cytoplasmatische Vacuole bildet sich in vielen Neuronen. Es wurde histochemisch nachgewiesen, daß Quecksilber eine enge Verbindung zu diesen Läsionen besitzt.

In den Vorderhornneuronen verursacht keine Quecksilber-Verbindung eine permanente pathologische Veränderung,

obwohl eine starke Dilatation der endoplasmatischen Cysterne und der Kernumhüllung in frühen Stadien der Vergiftung erfolgt.

Im Cerebellum machen sowohl organische als auch anorganische Quecksilberverbindungen extensive coagulative oder helle Veränderungen in den Granulazellen. Degeneration der PURKINJE-Zellen findet man in späten Stadien der Vergiftung (17, 18, 23, 69). Es wurde auch eine fibrinoid-Neurose der Kapillärwände im Gehirn festgestellt (23, 133).

Die Verteilung von Quecksilber im Gehirn entspricht den pathoanatomischen und pathohistologischen Schäden. Intrazellulär wird Quecksilber vor allem an die Membranstrukturen (Mitochondrien, endoplasmatisches Retikulum, GOLGI-Apparat und Kernhülle) gebunden gefunden (16, 88).

Nach Methylquecksilberhydroxidvergiftung ist die Zahl der SH-Gruppen signifikant geringer (89):

Tab. 9 : Zahl der SH-Gruppen in verschiedenen Organen nach Methylquecksilberhydroxidvergiftung

	Tierzahl	Zahl der SH-Gruppen M/g Gewebe		
		Gehirn	Leber	Muskulatur
Kontrollen	6	$17,63 \pm 1,12$	$44,75 \pm 5,60$	$29,24 \pm 1,43$
Methyl-Quecksilber gefütterte Tiere	15	$14,95 \pm 1,97$	$35,89 \pm 4,10$	$29,82 \pm 4,60$
Differenz		2,68	8,86	0,58
p		$< 0,001$	$< 0,01$	$0,5 < p < 0,6$

Die Erniedrigung der Aktivität von Enzymen durch organische Quecksilberstoffe ist schon mehrfach untersucht wor-

den. So hemmt p-Mercuribenzoat die Phosphoglucoseisomerase durch Besetzung der SH-Gruppen, die für die räumliche Ordnung des Enzyms zuständig sind (19). Die Glutamatdehydrogenase wird von Methylquecksilber an einer von 8 SH-Gruppen angegriffen und in ihrer Aktivität behindert. Es ist eine Konfigurationsstörung (75). Methylquecksilberhydroxid hemmt die Aminopyridindemethylase und die UDP-glucuronyl-transferase in Mikrosomen (64). Phenyl-Quecksilber-Azetat in der Konzentration von $10^{-4}M$ hemmt die mikrosomale NADH-cytochrom c-Reduktase zu 98 % (30). Mg-aktivierte ATPase, Fructosediphosphat-Aldolase und Succinatdehydrogenase werden Methylquecksilberthioacetamid in der Sehrinde, im Kleinhirn und im Nucleus caudatus nicht beeinträchtigt, während die beiden ersten Enzyme in der weißen Gehirnmasse gehemmt werden, wenn neurologische Vergiftungssymptome aufgetreten sind (135). Die NADPH-spezifische Glutathionreductase im Gehirn von Ratten wird statistisch signifikant gehemmt durch Methylquecksilber, während es die der Leber nicht angreift (91). Hefe-Invertase wird in vitro gehemmt durch Methylquecksilbernitrat (128). Ebenso die mischfunktionellen Oxidasen, die N-demethylase und die Hydroxylase (5).

Nach Methylquecksilberhydroxid-Vergiftung wird der Glukosegehalt in Erythrozyten, Blutplasma, Muskulatur und Leber von Ratten signifikant vermindert (90).

Die Synthese von DNS, RNS und Proteinen wird durch Methylquecksilberhydroxid gesteigert in Gehirn und Leber, gesenkt in der Niere (13).

2.5. Therapie der Methylquecksilbervergiftung

Die Therapie konnte sich bisher nur auf die Symptome beschränken, Versuche mit Antidota waren erfolglos (78, 114, 116).

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Prinzip

Versuchsziel der eigenen Untersuchungen ist eine experimentelle Klärung der Fragen, in welchem Umfang sich Quecksilber nach definierter oraler Aufnahme von Methylquecksilber in Gehirn und Leber anreichert und ob dabei die Monoaminoxidase in ihrer Aktivität gehemmt wird. Zu diesem Zweck wurden Ratten oral mit drei verschiedenen Methylquecksilberkonzentrationen belastet und die Quecksilberkonzentration sowie die Monoaminoxidaseaktivitäten in Gehirn und Leber bestimmt.

2. Tierversuche

2.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten männliche Ratten mit einem Einsatzgewicht von 100 - 120 g aus der Zucht des Instituts für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie, welche konventionell gehalten und mit "altromin"-R[®] der Fa. ALTROGGE, Lage/Lippe gefüttert worden waren.

2.2. Vorversuch

Zur Ermittlung der subchronisch tolerierbaren Methylquecksilberchloriddosen wurden 4 Gruppen von je 5 Ratten oral mit verschiedenen Konzentrationen belastet. Daneben wurde eine Kontrollgruppe (K) gehalten. Die Tiere bekamen 0,125 (I), 0,5 (II), 1,2 (III) bzw. 2,0 mg (IV) Methylquecksilberchlorid pro Tier und Tag. Gleichzeitig wurde das Verhalten und der Gesundheitszustand der Tiere beobachtet und das Körpergewicht registriert.

Zur Beschreibung der beobachteten Vergiftungssymptome wird das folgende von KLEIN et al. (58) angegebene Schema herangezogen:

Vergiftungsstadium 1: Keine Vergiftungssymptome

Vergiftungsstadium 2: Gewichtsverluste

Vergiftungsstadium 3: Nervöse und/oder zentralvernöse Symptome, z.B. Zwangsbewegungen, Nachschleifen der Hintergliedmaßen und "Phänomen der gekreuzten Hinterbeine" neben Apathie, Anorexie usw.

Der Vorversuch führte zu folgenden Ergebnissen:

Versuchsgruppe K: Die Kontrolltiere hatten nach 45 Tagen ein durchschnittliches Körpergewicht von 275 g. Ein Tier starb infolge Atemwegsinfektion.

Versuchsgruppe I: Diese Tiere wogen nach 45 Tagen durchschnittlich 245 g, nahmen also weniger zu als die Kontrolltiere.

Versuchsgruppe II: Die Tiere der Versuchsgruppe II starben zwischen dem 35. und 45. Tag der Belastung. Ihr Körpergewicht betrug 150 bis 205 g. Am 13. Versuchstag erreichten sie das Vergiftungsstadium 2, am 30. das Stadium 3.

Versuchsgruppe III: Die Tiere dieser Gruppe hielten etwa 10 Tage lang ihr Anfangsgewicht von 150 g, dann nahmen sie ab. Sie starben bis zum 25. Tag mit Körpergewichten von ca. 130 g. Stadium 2 wurde am 9. Tag des Versuchs erreicht, Stadium 3 am 13. Tag.

Versuchsgruppe IV: Die Tiere dieses Versuchs nahmen von Anfang an ab. Sie starben am 13. oder 14. Tag des Versuchs (Anfangsgewicht

150 g, Endgewicht ca. 130 g). Sie zeigten schon am 6. Versuchstag die Symptome des 2. Stadiums und schon am 10. die des 3. Stadiums.

Die Körpergewichtsentwicklung der Versuchstiere ist graphisch in Abb. 1 dargestellt.

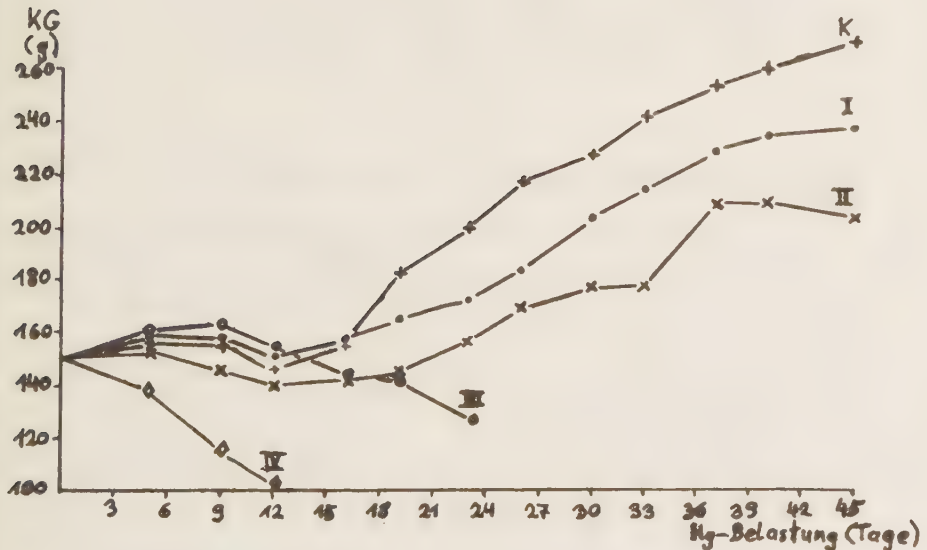


Abb. 1: Körpergewichtsverlauf der Versuchstiere des Vorversuchs. ($\bar{x}$)

Die Stagnation der Körpergewichtsentwicklung zwischen dem 4. und dem 13. Versuchstag ist durch eine Infektion bedingt.

2.3. Hauptversuch

In dieser und allen folgenden Tabellen werden an Symbolen verwendet:

Gr = Versuchsgruppe

D = Dosis (mg Methylquecksilberchlorid/kg
Körpergewicht und Tag)

t = Belastungsdauer (Tage)

$\bar{x}$ = arithmetischer Mittelwert

s_x = Standardabweichung der Einzelwerte

$s_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwertes

Tab. 10 : Versuchstierzahlen im Hauptversuch

Gr	D	t (Tage)					
		0	5	15	30	60	90
O	0	8	8	8	8	12	12
A	0,66		8	8	8	12	12
B	2,00		8	8	8	12	12
C	6,00		8	8	8	12	12

Diese Dosierungen entsprechen einer Quecksilberbelastung von 0,528, 1,6, und 4,8 mg pro kg Körpergewicht und Tag. Sie wurden den Versuchstieren in wässriger Lösung mit der Magensonde verabreicht.

Außerdem wurde das Körpergewicht nach 5-, 15-, 30-, 60- und 90-tägiger Versuchsdauer ermittelt.

Bei Versuchsende wurden die Tiere chloroformiert, dekapitiert und entblutet. Anschließend wurden Leber und Gehirn entnommen und - soweit sie zur Bestimmung des Quecksilbergehaltes Verwendung fanden - eingefroren.

3. Analytische Methodik

3.1. Reagenzien und Lösungen

Zur Durchführung der analytischen Untersuchungen wurden die im folgenden angegebenen Reagenzien und Lösungen gebraucht. Soweit erhältlich, wurde Analysenware verwendet. Als Lösungsmittel diente aqua dest.. Konzentrationsangaben beziehen sich auf Substanzgewicht pro Gesamtvolumen.

Hydroxylammoniumchlorid: $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$

MERCK, Darmstadt

4-Hydroxy-3-methoxy-benzylamin-Hydrochlorid 98 %:

$\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$

EGA-Chemie KG, Steinheim

Kaliumcarbonat: K_2CO_3

MERCK, Darmstadt

Kaliumchlorid: KCl

MERCK, Darmstadt

Kaliumpermanganat: KMnO_4

MERCK, Darmstadt

Magnesiumchlorid: $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

MERCK, Darmstadt

Methylquecksilberchlorid: CH_3HgCl

MERCK, Darmstadt

Perchlorsäure etwa 60 % (etwa 1,53): HClO_4
MERCK, Darmstadt

0,1 g Quecksilber FIXANAL[®] (0,1 g Hg/l)
wasserlöslicher Standard für die Atomabsorption
RIEDEL-DE HAEN, Seelze-Hannover

Saccharose: $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$
MERCK, Darmstadt

Salpetersäure min. 65 % (etwa 1,40): HNO_3
MERCK, Darmstadt

Salzsäure, 0,1 n: HCl
MERCK, Darmstadt

Schwefelsäure 95-97 % (etwa 1,84): H_2SO_4
MERCK, Darmstadt

Toluol für Spektroskopie: C_7H_8
MERCK, Darmstadt

Tris(hydroxymethyl)aminomethan Urtitersubstanz: $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$
MERCK, Darmstadt

Vanillin 97 %: $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$
MERCK, Darmstadt

Zinn(II)chlorid: $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$
MERCK, Darmstadt

Hydroxylammoniumchlorid-Lösung, 1 m

4-Hydroxy-3-methoxy-benzylamin-HCl-Lösung: 0,0316 %ig
in Tris-Puffer (Substratlösung)

Kaliumcarbonat-Lösung, 1 m

Kaliumpermanganat-Lösung, 5 %ig

Tris-Puffer, pH 7,5:

Tris(hydroxymethyl)aminomethan	2,423 g
Saccharose	109,536 g
MgCl ₂ · H ₂ O	0,610 g
HCl-Lösung, 0,02 n	256,8 ml
aqua dest.	ad 1000,0 ml

Zinn(II)chlorid-Lösung, 10 %ig

3.2. Geräte

Zur Durchführung der Versuche wurden folgende Geräte verwendet:

Potter-Elvehjem-Homogenisator (mit Teflonpistill)

Beckman Spektralphotometer DB - GT

Perkin-Elmer Atomabsorptionsspektrometer (Modell 403)
mit Hg-Zusatzsystem

3.3. Bestimmung der Monoaminoxidase-Aktivität

3.3.1. Prinzip

Die Bestimmung der Monoaminoxidase-Aktivität beruht auf der durch das Enzym katalysierten Desaminierung von 4-Hydroxy-3-methoxy-benzylamin (Substrat) zu Vanillin und dessen spektrophotometrischer Bestimmung mit Hilfe einer Eichkurve.

Als Parameter der Enzymaktivität wird die von 1 Gramm Organ in 1 Minute entwickelte Vanillinmenge gewählt. Die Maßeinheit der Enzymaktivität ist 10^{-10} Mol/g·min.

3.3.2. Eichkurve für Vanillin

Zur Aufstellung einer Eichkurve für Vanillin wurden verschiedene Vanillinkonzentrationen in 1 m Kaliumcarbonat-Lösung hergestellt und bei 345 nm, einer Schichtdicke von 1 cm und einer Spaltbreite von 1 mm photometriert. Dabei ergab sich folgender Zusammenhang zwischen Extinktion und Vanillinkonzentration (K_V in $\mu\text{g/ml}$):

$$E = 0,162619 \cdot K_V - 0,02 \quad \text{mit einer}$$

$$s_{y \cdot x} \text{ von } \pm 0,02$$

Die graphische Darstellung dieses Zusammenhangs ergibt folgendes Bild:

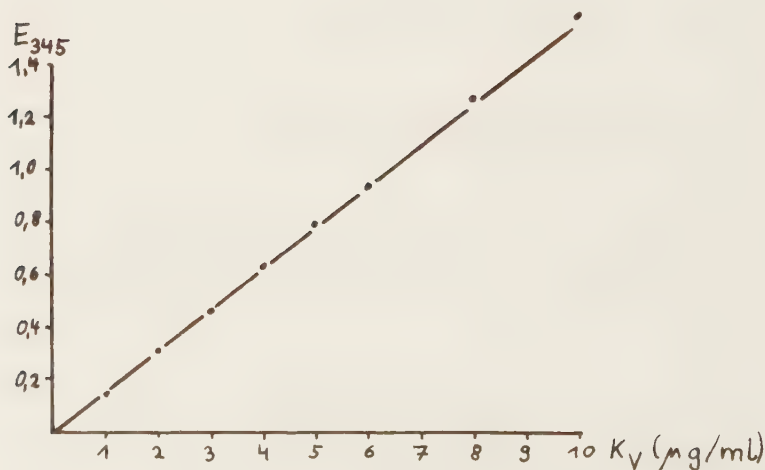


Abb. 2 : Eichkurve für Vanillin

3.3.3. Durchführung der Monoaminoxidaseaktivitäts- Bestimmung in Gehirn und Leber

Die Aktivität der Monoaminoxidase wurde bestimmt nach der Methode von W. CHRIST und D. RAKOW (20) mit dem Unterschied, daß anstelle des dort angegebenen Phosphatpuffers der o.a. Tris-Puffer Verwendung fand.

Im einzelnen wurde die Bestimmung wie folgt durchgeführt:

1. Ein genau abgewogener Teil der Organprobe wurde mit isotonomischer Kaliumchlorid-Lösung im Verhältnis 1 + 9 (Naßgewicht zu Volumen) bei etwa 1000 Upm homogenisiert.
2. Das Homogenat wurde sofort nach der Herstellung durch vier Lagen Verbandmull filtriert.
3. Dann wurden von Leberhomogenat 0,2 ml - von Gehirnhomogenat 0,5 ml - in 2,0 ml Tris-Puffer-Lösung suspendiert, 3 ml Substratlösung hinzugefügt und das Gemisch 30 Minuten lang bei 37 °C im Wasserbad gehalten.
4. Die Inkubation wurde mit 0,5 ml Perchlorsäure gestoppt, die Inkubationsmischung danach 5 min bei 6000 Upm zentrifugiert.
5. 5 ml Überstand wurden mit 10 ml Toluol versetzt, 20 min bei 80 Upm geschüttelt und anschließend 5 min lang bei 6000 Upm zentrifugiert.
6. 7,5 ml der Toluol-Phase wurden mit 4 ml Kaliumcarbonatlösung versetzt und 5 min bei 80 Upm geschüttelt. Danach wurde wieder 5 min bei 6000 Upm zentrifugiert.
7. Die Kaliumcarbonat-Phase wurde bei 345 nm spektrophotometrisch gegen Kaliumcarbonat-Lösung bei einer Spaltbreite von 1 mm und einer Schichtdicke von 1 cm gemessen.

Unter diesen Bedingungen ergibt sich die Monoaminoxidase-Aktivität (A) zu:

$$A_{\text{Leber}} = 4,096 \cdot (E + 0,02) (10^{-10} \text{ M/g} \cdot \text{min})$$

$$A_{\text{Gehirn}} = 1,724 \cdot (E + 0,02) (10^{-10} \text{ M/g} \cdot \text{min})$$

3.4. Bestimmung der Quecksilberkonzentration

3.4.1. Prinzip

Zur Bestimmung des Quecksilbergehaltes in Gehirn und Leber wurden Proben beider Organe naß verascht, das Quecksilber mit Zinn(II)chlorid zu metallischem Quecksilber reduziert und aus der Analysen-Lösung ausgetrieben. Die Bestimmung der Quecksilberdampfkonzentration erfolgt atomabsorptionsspektrometrisch unter Verwendung einer Eichkurve.

3.4.2. Eichkurve für Quecksilber

Zur Herstellung einer Quecksilber-Eichkurve wurden verschiedene Konzentrationen der Quecksilber-Standardlösung wie im folgenden Abschnitt für die Probenflüssigkeit beschrieben, behandelt, und mit Hilfe eines Atomabsorptionsspektrometers gemessen. Dabei wurde folgender Zusammenhang zwischen Quecksilbermenge (M_{Hg}) und Schreiber ausschlag (S) ermittelt:

$$S = 315,6 \cdot M_{\text{Hg}} + 0,82 \text{ (mm/}\mu\text{g)}$$

$$\text{mit einer } s_{y.x} = \pm 1,46 \text{ (mm/}\mu\text{g)}$$

Die graphische Darstellung des vorliegenden Zusammenhanges ergibt Abbildung 3.

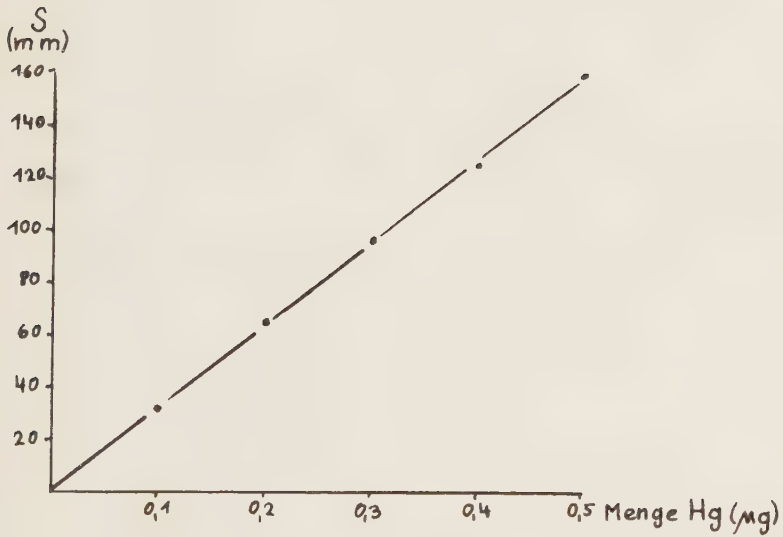


Abb. 3 : Eichkurve für Quecksilber

3.4.3. Durchführung der Quecksilberbestimmung in Gehirn und Leber

Etwa 1 bis 2 g der tiefgefrorenen Organproben wurden zur Bestimmung des Quecksilber-Gehaltes genau gewogen und wie folgt aufgeschlossen: Die Probe wurde nach Zugabe von 10 ml Salpetersäure unter Rückflußkühlung 30 Minuten lang über dem Bunsenbrenner erhitzt. Danach wurden 3 ml Perchlorsäure und 2 ml Schwefelsäure zugegeben und 60 Minuten erhitzt. Die Veraschungslösung wurde nach Abkühlung filtriert und aufbewahrt.

Die Bestimmung des Quecksilbergehaltes erfolgte nach G. HÖLLERER und J. HOFFMANN (47) in folgender Weise:

1. Von der Probenflüssigkeit wurde ein Teil entnommen und in einer Gaswaschflasche mit etwa 30 ml Aqua dest. gemischt.
2. Danach wurden einige Tropfen Kaliumpermanganat-Lösung bis zur bleibenden Rotfärbung zugegeben und die Flüssigkeit ca. 3 Minuten lang stehen gelassen.
3. Das Kaliumpermanganat wurde mit überschüssiger Hydroxylammoniumchlorid-Lösung bis zur Entfärbung reduziert.
4. Nach Zugabe von ca. 5 ml Zinn(II)chlorid-Lösung wurde die Analysenflüssigkeit mit Luft durchströmt und das ausgetriebene Quecksilber durch die Meßküvette des Atomabsorptionsspektrometers gepumpt. Die Messung erfolgte flammenlos bei 253,6 nm.

Unter diesen Bedingungen errechnet sich die Quecksilberkonzentration der untersuchten Organprobe (K_O) zu

$$K_O = \frac{a \cdot b \cdot F}{c \cdot d} \quad (\text{ppm}),$$

wobei die verwendeten Symbole folgende Bedeutung haben:

- a = Quecksilbermenge (μg) in dem in den Pumpenkreislauf gebrachten Teil der Probenflüssigkeit
- b = Volumen (ml) der Gesamtprobenflüssigkeit
- c = Volumen (ml) des in den Pumpenkreislauf gebrachten Teils der Probenflüssigkeit
- d = Gewicht (g) der aufgeschlossenen Organprobe
- F = Korrekturfaktor zur Berücksichtigung der Wiederauffindungsrate (s. unten).

3.4.4. Bestimmung der Wiederauffindungsrate

Zur Bestimmung der Wiederauffindungsrate wurden Leber- und Gehirnproben mit einer bekannten Menge Quecksilber versetzt und dasselbe, wie oben beschrieben, bestimmt. Dabei ergab sich eine Wiederauffindungsrate für Lebergewebe von $89,98 \pm 2,62 \%$ und für Gehirngewebe von $91,94 \pm 1,77 \%$ ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). Hieraus errechnen sich die Korrekturfaktoren in den o.a. Formeln zu

$$F_{\text{Gehirn}} = 1,09$$

$$F_{\text{Leber}} = 1,11.$$

4. Ergebnisse

Im folgenden werden die Ergebnisse der beschriebenen Versuche dargestellt.

4.1. Körpergewichtsentwicklung

Die Entwicklung des Körpergewichts der Versuchstiere während der Belastungsdauer ist in Tabelle 2 angegeben.

Tab. 11 : Körpergewichtsentwicklung (g) der Versuchstiere ($\bar{x} \pm s_x$)

Gr	D	t (Tage)					
		0	5	15	30	60	90
O	0	116,25 $\pm 6,94$	150,00 $\pm 12,75$	198,13 $\pm 15,57$	262,14 $\pm 24,18$	327,08 $\pm 28,17$	386,66 $\pm 31,97$
A	0,66		151,87 $\pm 14,56$	201,43 $\pm 18,27$	295,62 $\pm 38,77$	358,33 $\pm 38,96$	377,50 $\pm 39,18$
B	2,00		149,38 $\pm 13,56$	190,63 $\pm 11,30$	272,86 $\pm 24,62$	264,00 $\pm 27,46$	(b)
C	6,00		134,37 $\pm 10,14$	136,25 $\pm 27,09$	155,30 (a)	(b)	(b)

(a) Nur ein Tier überlebte.

(b) Vor Versuchsende gestorben.

Eine statistische Analyse der Körpergewichtsentwicklung der einzelnen Versuchstiergruppen nach WINNE (130) ergibt, daß

- die Versuchsgruppe B (2,0 mg Methylquecksilberchlorid /kg · Tag) nach 60tägiger und
- die Versuchstiergruppe C (6,0 mg Methylquecksilberchlorid/kg · Tag) nach 15tägiger Belastungsdauer

signifikant niedrigere Körpergewichte aufwiesen als die Kontrollgruppe O (0 mg Methylquecksilberchlorid/kg · Tag) und die Versuchstiergruppe A (0,66 mg Methylquecksilberchlorid/kg · Tag) ($p < 0,05$). Dieser Sachverhalt ist in Abb. 4 graphisch dargestellt.

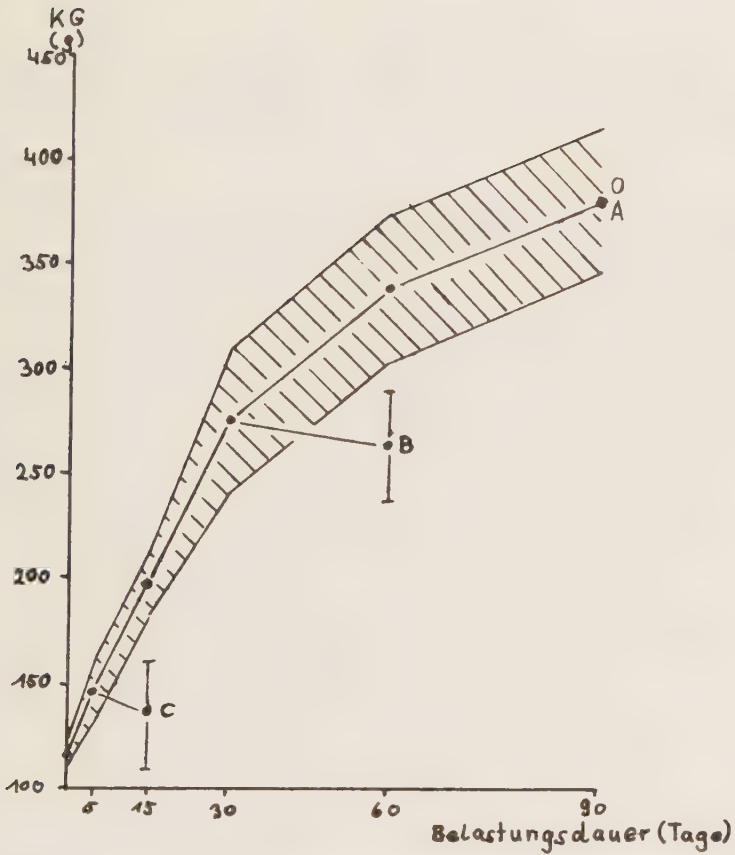


Abb. 4 : Körpergewichtsentwicklung der Tiere des Hauptversuchs

4.2. Klinisches Vergiftungsbild

Die Beschreibung des klinischen Vergiftungsbildes orientiert sich an der o.a. Spezifizierung der Vergiftungssymptome

Versuchsgruppe O (Kontrolltiere): Die Tiere der Kontrollgruppe blieben während der Versuchsdauer ohne klinischen Befund.

Versuchsgruppe A (0,66 mg Methylquecksilberchlorid/kg und Tag): Diese Tiere zeigten eine normale Gewichtsentwicklung und keinerlei Vergiftungssymptome.

Versuchsgruppe B (2,0 mg Methylquecksilberchlorid/kg und Tag): Diese Tiere zeigten vom 30. Versuchstag an eine sistierende Körpergewichtsentwicklung (Stadium 2). Das Vergiftungsstadium 3 begann am 40. Tag. Alle Tiere starben zwischen dem 63. und 83. Versuchstag. Einige Versuchstiere waren offenbar erblindet.

Versuchsgruppe C (6,0 mg Methylquecksilberchlorid/kg und Tag): Die Tiere dieser Versuchsgruppe erreichten schon am 5. Belastungstag das 2. Vergiftungsstadium. Das 3. Stadium begann am 10. Versuchstag. Die Tiere verendeten zwischen dem 13. und dem 28. Versuchstag. Ein Tier erreichte den 30. Versuchstag lebend und wurde dem normalen Untersuchungsangang unterworfen.

4.3. Monoaminoxidase-Aktivität in Gehirn und Leber

Die bestimmte Monoaminoxidase-Aktivität in Gehirn und Leber der Versuchstiere ist in Tab. 12 und 13 zusammengefaßt.

Tab. 12 : MAO-Aktivität (10^{-10} M/g · min) im Gehirn
der Versuchstiere ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Gr	D	t (Tage)					
		0	5	15	30	60	90
O	0	0,60 $\pm 0,05$	0,53 $\pm 0,04$	0,64 $\pm 0,02$	0,68 $\pm 0,02$	0,62 $\pm 0,01$	0,58 $\pm 0,03$
A	0,66		0,53 $\pm 0,04$	0,61 $\pm 0,02$	0,57 $\pm 0,02$	0,52 $\pm 0,02$	0,72 $\pm 0,03$
B	2,00		0,55 $\pm 0,04$	0,52 $\pm 0,03$	0,60 $\pm 0,03$	0,61 $\pm 0,03$	(b)
C	6,00		0,48 $\pm 0,04$	0,65 $\pm 0,03$	0,63 (a)	(b)	(b)

(a) Nur ein Tier überlebte.

(b) Vor Versuchsende gestorben.

Tab. 13 : MAO-Aktivität (10^{-10} M/g · min) in der Leber
der Versuchstiere ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Gr	D	t (Tage)					
		0	5	15	30	60	90
O	0	3,51 $\pm 0,20$	3,00 $\pm 0,28$	3,54 $\pm 0,19$	3,93 $\pm 0,10$	3,97 $\pm 0,20$	3,24 $\pm 0,25$
A	0,66		2,71 $\pm 0,21$	3,09 $\pm 0,15$	3,83 $\pm 0,18$	3,18 $\pm 0,22$	4,10 $\pm 0,19$
B	2,00		3,54 $\pm 0,21$	3,26 $\pm 0,27$	3,46 $\pm 0,22$	2,65 $\pm 0,27$	(b)
C	6,00		2,95 $\pm 0,21$	3,49 $\pm 0,24$	2,63 (a)	(b)	(b)

(a) Nur ein Tier überlebte.

(b) Vor Versuchsende gestorben.

Zur Beurteilung der Tabellenwerte wurde die Varianzanalyse mit den zeitlich verschiedenen Ergebnissen innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen und bei gleichen Zeitpunkten zwischen den Versuchsgruppen durchgeführt. Das Auswertungsergebnis ist in den Abb. 5 und 6 graphisch dargestellt.

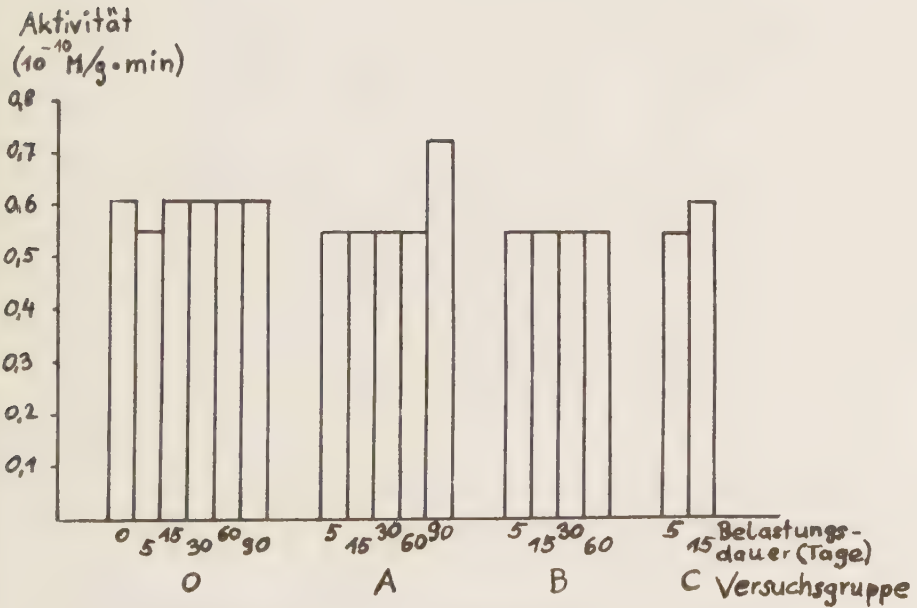


Abb. 5 : Statistische Auswertung von Tab. 12 (differenzierte Säulenhöhen kennzeichnen signifikante Unterschiede, $p < 0,05$)

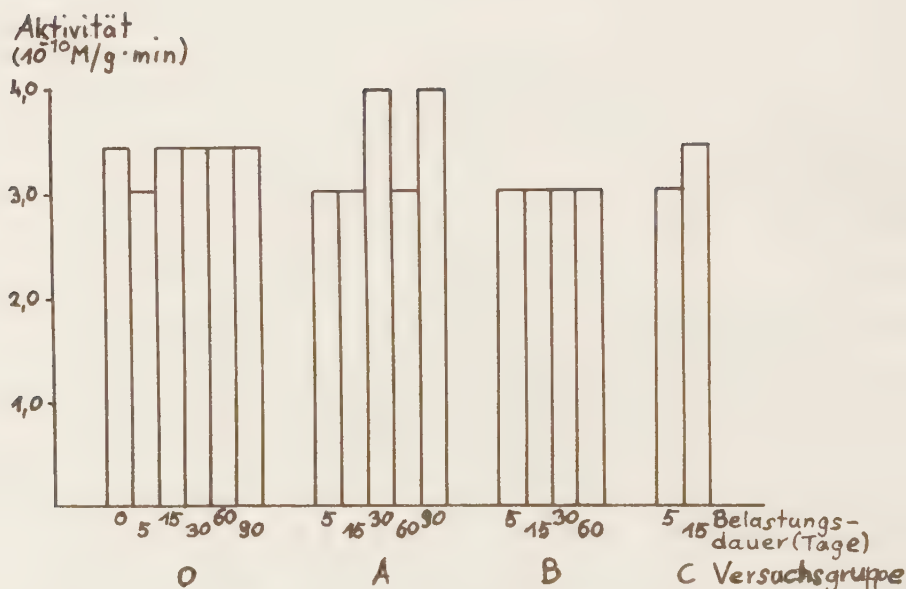


Abb. 6 : Statistische Auswertung von Tab. 13 (differenzierte Säulenhöhen kennzeichnen signifikante Unterschiede, $p < 0,05$)

Aus einem Vergleich von Abb. 5 und 6 geht zunächst hervor,

- daß die Monoaminoxidase-Aktivitäten in der Leber um den Faktor 4 bis 6 höher sind als im Gehirn und
- daß sich die Aktivitäten in beiden Organen analog verhalten, ausgenommen die 30-Tage-Tiere der Versuchsgruppe A.

Im Gehirn sind die Monoaminoxidase-Aktivitäten nach 15-, 30- und 60-tägiger Belastung mit 0,66 sowie 2,0 mg

Methylquecksilberchlorid pro kg Körpergewicht und Tag niedriger und nach 90-tägiger Belastung mit 0,66 mg Methylquecksilberchlorid pro kg Körpergewicht und Tag höher als bei der Kontrollgruppe.

In der Leber ergeben sich dieselben Veränderungen mit der einzigen Ausnahme, daß die 30-tägige Belastung mit 0,66 mg Methylquecksilberchlorid pro kg Körpergewicht und Tag eine Aktivitätssteigerung im Vergleich zur Kontrollgruppe verursacht hat.

4.4. Quecksilbergehalte in Gehirn und Leber

Die Quecksilberkonzentrationen in Gehirn und Leber sind in Tabellen 14 und 15 angegeben und in den Abbildungen 7 und 8 graphisch veranschaulicht.

Tab. 14 : Hg-Gehalt (ppm) im Gehirn der Versuchstiere
($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Gr	D	t (Tage)					
		0	5	15	30	60	90
O	0	0,15 $\pm 0,02$	0,12 $\pm 0,02$	0,14 $\pm 0,04$	0,19 $\pm 0,06$	0,09 $\pm 0,01$	0,09 $\pm 0,01$
A	0,66		1,32 $\pm 0,13$	3,49 $\pm 0,48$	4,21 $\pm 0,64$	7,72 $\pm 0,36$	9,51 $\pm 0,69$
B	2,00		3,66 $\pm 0,14$	7,65 $\pm 0,74$	12,96 $\pm 0,86$	19,29 $\pm 1,89$	44,67 $\pm 3,76$ (b)
C	6,00		10,33 $\pm 0,64$	23,11 $\pm 1,22$	59,60 (a) 62,35 $\pm 4,11$ (b)	59,76 $\pm 3,38$ (b)	

(a) Nur ein Tier überlebte.

(b) Vor Versuchsende gestorben.

Tab. 15 : Hg-Gehalt (ppm) in der Leber
der Versuchstiere ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Gr	D	t (Tage)					
		0	5	15	30	60	90
O	0	0,18 $\pm 0,03$	0,25 $\pm 0,03$	0,10 $\pm 0,02$	0,08 $\pm 0,02$	0,05 $\pm 0,01$	0,07 $\pm 0,01$
A	0,66		2,89 $\pm 0,26$	8,10 $\pm 0,60$	13,45 $\pm 1,81$	19,90 $\pm 1,73$	24,53 $\pm 1,50$
B	2,00		10,93 $\pm 0,41$	26,99 $\pm 2,21$	29,66 $\pm 1,62$	70,15 $\pm 6,45$	208,29 $\pm 11,65$ (b)
C	6,00		25,20 $\pm 1,90$	60,96 $\pm 5,55$	182,53 (a) 261,06 $\pm 24,81$ (b)	230,08 $\pm 13,76$ (b)	

(a) Nur ein Tier überlebte.

(b) Vor Versuchsende gestorben.

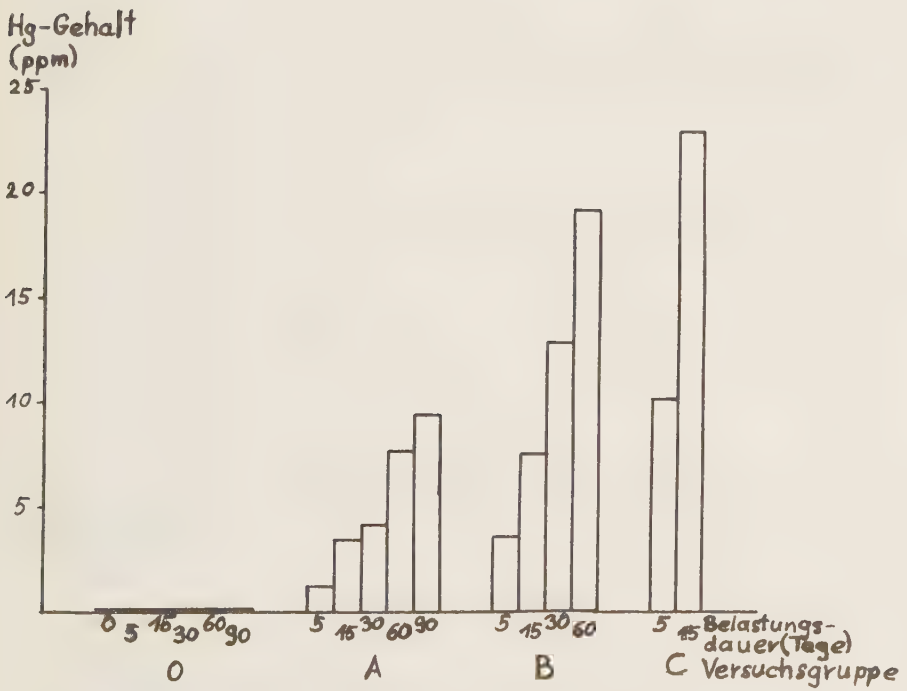


Abb. 7 : Quecksilberkonzentrationen im Gehirn

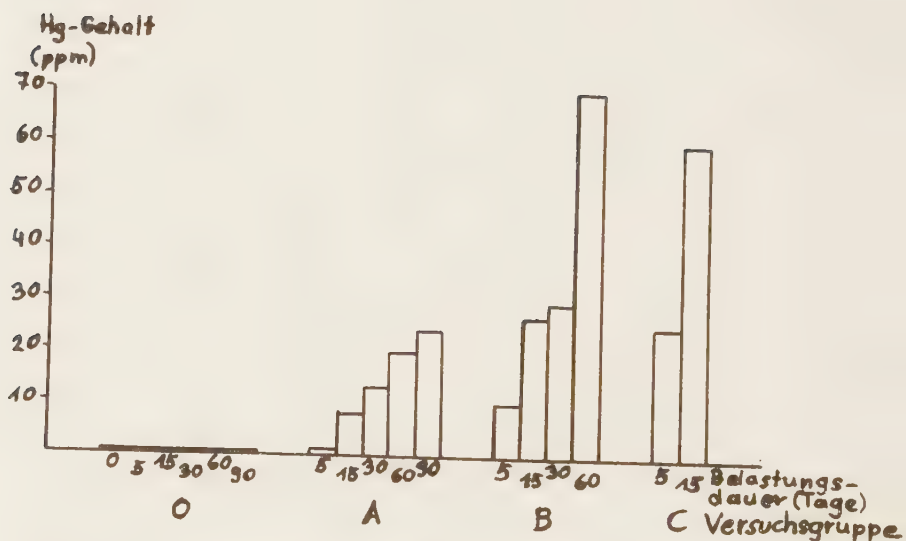


Abb. 8: Quecksilberkonzentrationen in der Leber

Eine statistische Auswertung der Tabellen (t-Test; Kurvendiskriminierung nach WINNE (130)) ergibt, daß die Quecksilbergehalte in der Leber um den Faktor 2 bis 3 höher sind als im Gehirn, und daß sie in beiden Organen eine signifikante Zeit- sowie Dosis-Abhängigkeit aufweisen.

IV. DISKUSSION

Das im Vor- und Hauptversuch beobachtete klinische Vergiftungsbild stimmt mit vergleichbaren Angaben aus der Literatur (15, 18, 44, 58) ohne Einschränkung überein. Deshalb kann auch der von KLEIN (58) beschriebene Vergiftungsverlauf - Stadium 1: kein klinischer Befund, Stadium 2: Gewichtsverlust, Stadium 3: nervöse Symptome - mit dem Zusatz bestätigt werden, daß sich das Stadium 2 bei w a c h s e n d e n Tieren als Stagnation der Körpergewichtszunahme ankündigt. Dieses Symptom scheint als erstes objektivierbares Anzeichen der Vergiftung aufzutreten und ist deshalb von diagnostischer Bedeutung.

Als akute Belastungsgrenzen erwiesen sich die in der folgenden Übersicht zusammengefaßten Dosis-Zeitwerte:

Tab. 16 : Belastungsdauer bis zum Eintritt akuter Wirkungen (Tage)

Dosis (mg/kg·Tag)	0,66	2,0	6,0
keine Wirkung	90	15	<5
toxische Wirkungen	-	30	5
nervöse Wirkungen	-	40	10
erste Todesfälle	-	63	13

Der Übersicht läßt sich entnehmen, daß z.B. bei

90tägiger oraler Belastung mit 0,66 mg Methylquecksilberchlorid/kg und Tag keine klinischen Wirkungen auftraten. Spätwirkungen - auch nach Unterbrechung der Belastung - sind damit jedoch nicht auszuschließen.

Über die diesen Belastungsgrenzen zugeordneten Quecksilberkonzentrationen in Gehirn und Leber informiert die nächste Übersicht.

Tab. 17 : Quecksilberkonzentrationen in Gehirn und Leber bei Eintritt akuter klinischer Wirkungen (ppm)

Dosis (mg/kg·Tag)		0,66	2,0	6,0
keine Wirkung	Gehirn	9,5 $\pm$ 0,7	7,7 $\pm$ 0,7	<10,3 $\pm$ 0,6
	Leber	24,5 $\pm$ 1,5	27,0 $\pm$ 2,2	<25,2 $\pm$ 1,9
toxische Wirkungen	Gehirn	-	13,0 $\pm$ 0,9	10,3 $\pm$ 0,6
	Leber	-	29,7 $\pm$ 1,6	25,2 $\pm$ 1,9
erste Todesfälle	Gehirn	-	ca. 28	ca. 29
	Leber	-	ca. 164	ca. 156

Aus ihr ergibt sich, daß

- die akut toxische Grenzkonzentration im Gehirn bei etwa 10 ppm und in der Leber bei ca. 25 ppm Quecksilber liegt und
- erste Todesfälle bei Quecksilberkonzentrationen im Gehirn von ca. 28 und in der Leber bei etwa 160 ppm auftreten. Dies befindet sich in guter Übereinstimmung mit der Literatur (74), wo bei spontan gestorbenen Mäusen und Katzen rund 30 ppm Quecksilber im Gehirn als Grenzkonzentration angegeben werden.

Die bei allen Versuchstieren beobachtbare Korrelation

der Quecksilberkonzentrationen mit der Belastungsdauer und die gefundenen Konzentrationen in Gehirn und Leber sind auch von anderen Untersuchern beschrieben worden (13, 18, 23, 58, 74, 77, 91, 126). Der Konzentrationsanstieg läßt im Verlauf von 90 Tagen keinen Grenzwert erkennen, d.h., daß auch die vorliegenden Ergebnisse Quecksilber als ausgesprochenes Kumulationsgift ausweisen.

Angesichts der Quecksilber-Gehalte in beiden untersuchten Organen ist die mehrfach festgestellte Monoaminoxidase-Hemmung zunächst nicht überraschend, da Quecksilber eine hohe Affinität zu SH-Gruppen besitzt und das Enzym mehrere solche enthält (28, 110). So wäre eine Enzyminaktivierung durchaus denkbar. Hinzu kommt, daß die Folge der Monoaminoxidase-Hemmung - eine fehlende Catecholamininaktivierung - im Gehirn den zentralnervösen Symptomenkomplex der chronischen Quecksilbervergiftung zu erklären vermöchte. Zur Skepsis gegenüber dieser Interpretation veranlaßt jedoch die fehlende Abhängigkeit der Enzymhemmung von den gefundenen Quecksilberkonzentrationen in den Geweben. Eine Unvereinbarkeit ergibt sich schließlich mit den gleichfalls festgestellten Zunahmen der Monoaminoxidase-Aktivitäten im Gehirn der 30- und 90-Tage-Tiere sowie in der Leber der 90-Tage-Tiere der Versuchsgruppe A. Die Aktivierungssteigerung sind beim heutigen Wissensstand über die Eigenschaften dieses Enzyms nicht erklärbar. Andererseits soll nicht verschwiegen werden, daß Aktivitätssteigerungen von Enzymen - die Monoaminoxidase eingeschlossen (59) - durch Schwermetalle wiederholt beschrieben wurden. Theoretisch wären solche Effekte durch Umstrukturierung der Enzymproteine vorstellbar. Gegen eine Zufälligkeit der gewonnenen Ergebnisse spricht außerdem die weitgehende Parallelität der Enzymaktivitäten in Gehirn und Leber. Im Zusammenhang mit der chronischen Quecksilbervergiftung ergibt sich damit die Schlussfolgerung, daß eine Monoaminoxidase-Hemmung als Mitursache des zentralnervösen Vergiftungsbildes nicht ausgeschlossen werden kann.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Im folgenden wird über Untersuchungen zur Bestimmung der Quecksilber-Konzentration und der Monoaminoxidase-Aktivität in Gehirn und Leber wachsender Ratten nach 90-tägiger oraler Belastung mit 0,66, 2,0 und 6,0 mg Methylquecksilberchlorid pro kg Körpergewicht und Tag berichtet.

Die Quecksilberbestimmung erfolgte atomabsorptions-spektrometrisch, die Monoaminoxidase-Bestimmung spektrophotometrisch.

Die Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Die klinischen Befunde bestehen in einer Hemmung der Körpergewichtszunahme (erstes diagnostisch wichtiges Vergiftungssymptom) sowie nervösen Symptomen (Exzitation, Lähmungen) und entsprechen damit dem Bild der chronischen Quecksilbervergiftung.
2. Die Quecksilberkonzentrationen in Gehirn und Leber korrelieren positiv mit der Belastungsdauer und der Dosis. Sie sind in der Leber um den Faktor 2 bis 3 höher als im Gehirn.
3. Die Monoaminoxidase-Aktivitäten in Gehirn und Leber werden überwiegend gehemmt, teilweise jedoch auch stimuliert und verhalten sich in beiden Organen weitgehend gleichsinnig. Sie sind in der Leber um den Faktor 4 bis 6 höher als im Gehirn. Eine Korrelation mit der Quecksilber-Konzentration der Gewebe ist nicht eindeutig erkennbar. Trotzdem kann eine Enzymbeeinflussung durch die Quecksilberbelastung nicht ausgeschlossen werden.

SUMMARY

The mercury content and the activity of monoamine oxidase were estimated in the brain and liver of growing rats which were administered a daily dose of 0,66, 2,0, and 6,0 mg methyl mercury chloride per kg of body weight for 90 days.

The estimation of mercury was obtained by atomic absorption spectrometry, the activity of monoamine oxidase was measured spectrophotometrically.

The results can be summarized as follows:

1. The clinical observations consist of an inhibition of weight gain (first diagnostically important intoxication symptom) and neurological alterations (excitations, ataxia). They resemble the picture of chronic mercury poisoning.
2. The mercury content in brain and liver was correlated to the dose and time of exposure. The liver contained 2 to 3 times the mercury content of the brain.
3. The activity of monoamine oxidase in brain and liver is generally inhibited, in few cases it was increased. The monoamine oxidase in both tissues shows generally uniform behavior, except that the activity in the liver is 4 to 6 times higher than in the brain. A correlation between the enzyme activity and the mercury content could not be found. However, an influence on the enzyme by the mercury burden can not be excluded.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Abelson, P.H.
 Methyl Mercury
 Science 169, 237, 1970
- 2 Aberg, B., L. Ekman, R. Falk, U. Greitz, G. Persson
 und S. O. Snih
 Metabolism of Methyl Mercury (^{203}Hg) Compounds in Men
 Arch. Environ. Health 19, 478, 1969
- 3 Achee, F.
 The Association and Dissociation and Number of
 Subunits of Beef Plasma Amine Oxidase
 Biochemistry 7, 4329, 1968
- 4 Akopyan, Z. I., L. N. Stesina und V. Z. Gorkin
 Reversible Oxidation of SH-Groups in MAO
 J. Biol. Chem. 246, 4610, 1971
- 5 Alvares, A. P., S. Leigh, J. Cohn und A. Kappas
 Lead and Methyl Mercury : Effects of Acute Exposure
 on Cytochrome P-450 and the Mixed Function Oxidase
 System in the Liver
 J. exp. Med. 135, 1406, 1972
- 6 Banat, K., U. Förstner und G. Müller
 Schwermetalle in Sedimenten von Donau, Rhein, Ems,
 Weser und Elbe im Bereich der Bundesrepublik Deutsch-
 land
 Naturwissenschaften 59, 525, 1972
- 7 Barbato, L. M. und L. G. Abood
 Purification and Properties of Monoamine Oxidase
 Biochim. Biophys. Acta 67, 531, 1963

- 8 Berglund, F. und M. Berlin
Risk of Methyl Mercury Cumulation in Men and Mammals
and the Relation Between Body Burden of Methyl Mercury
and Toxic Effects
in: Chemical Fallout, M. W. Miller and G. C. Berg,
eds., p. 258, Thomas, Springfield, Ill., 1969
- 9 Berlin, M.
Eine Studie am Kaninchen während der Infusion von
Methyl- und Phenyl-Hg-Verbindungen
Arch. Environ. Health 6, 64, 1963
- 10 Berlin, M. und S. Ullberg
Autoradiographischer Vergleich zwischen Methylmercuri-
dicyanamid und anorganischem Quecksilber
Arch. Environ. Health 6, 610, 1963
- 11 Bhagvat, K., H. Blaschko und D. Richter
Amine Oxidase
Biochem. J. 33, 1338, 1939,
- 12 Birkhäuser, H.
Fermente im Gehirn geistig normaler Menschen
Helv. chim. Acta 23, 1071, 1940
- 13 Brubaker, P. E., R. Klein, S. P. Herman, G. W. Lucier,
L. T. Alexander und M. D. Long
DNA, RNA, and Protein Synthesis in Brain, Liver, and
Kidneys of Asymptomatic Methyl Mercury Treated Rats
Exp. mol. path. 18, 263, 1973
- 14 Burn, J. H. und J. Robinson
Effect of Denervation on Amine Oxidase in Structures
Innervated by the Sympathetic
Brit. J. Pharmacol. 7, 304, 1951

- 15 Cavanagh, J. B. und F. C. K. Chen
The Effects of Methyl-mercury-dicyanamide on the
Peripheral Nerves and Spinal Cord of Rats
Acta neuropath. 19, 208, 1971

- 16 Chang, L. W. und H. A. Hartmann
Electromicroscopic Histochemical Study on the Locali-
zation and Distribution of Mercury in the Nervous
System after Mercury Intoxication
Exp. Neurol. 35, 122, 1972

- 17 Chang, L. W. und H. A. Hartmann
Ultrastructural Studies of the Nervous System after
Mercury Intoxication : I. Pathological Changes to the
Nerve Cell Bodies
Acta neuropath. 20, 122, 1972

- 18 Charbonneau, S. M., I. C. Munro, E. A. Nera, R. F.
Willes, T. Kuiper-Goodman, F. Iverson, D. R. Stoltz,
F. A. J. Armstrong, J. F. Uthe und H. C. Grice
Subacute Toxicity of Methylmercury in the Adult Cat
Toxicol. appl. Pharmacol. 27, 569, 1974

- 19 Chatterjee, G. C. und E. A. Noltman
Reaction of Sulfhydryl Groups in Phosphoglucose
Isomerase with Organic Mercurials
J. Biol. Chem. 242, 3440, 1967

- 20 Christ, W. und D. Rakow
A Simple and Rapid Spectrophotometric Determination
of MAO Activity
Arch. Pharmacol. exp. Path., Suppl. to Vol. 277,
R 10, 1973

- 21 Collins, G. G. S., M. B. H. Youdim und M. Sandler
Isoenzymes of Human and Rat Liver MAO
FEBS Letters 1, 215, 1968

- 22 Cullen, M. C. und E. T. Mc Guinness
Radiochromatographic Assay for Thiol Groups of
Soluble Proteins Using Mercury-203 Labeled Methyl-
mercury
Anal. Biochem. 42, 455, 1971
- 23 Diamond, S. S. und S. D. Sleight
Acute and Subchronic Methylmercury Toxicosis in the
Rat
Toxicol. appl. Pharmacol. 23, 197, 1972
- 24 Ellis, R. W. und S. C. Fang
Ausscheidung, Speicherung und intracellulärer Einbau
von Hg bei Ratten nach einer oralen Dosis von ^{203}Hg -
markiertem Hg-Phenylacetat und Hg-Acetat
Toxicol. appl. Pharmacol. 11, 104, 1967
- 25 Erwin, V. G. und L. Hellerman
Purification and Characterization of the Bovine Kidney
Mitochondrial Monoamine Oxidase
J. Biol. Chem. 242, 4230, 1967
- 26 Fagerström, T. und A. Jernelov
Formation of Methyl Mercury from Pure Mercuric Sulphide
in Aerobic Organic Sediment
Water Res. 5, 121, 1971
- 27 Fowler, B. A.
Ultrastructural Evidence for Nephropathy Induced by
Longterm Exposure to Small Amounts of Methyl Mercury
Science 175, 780, 1972
- 28 Friedenwald, J. S. und H. Hermann
The Induction of Amine Oxidase by Enzymatic Products
of Catechol and Adrenalin
J. Biol. Chem. 146, 411, 1942

- 29 Gage, J. C.
Verteilung und Ausscheidung von Methyl- und Phenyl-
quecksilbersalzen
Brit. J. Industr. Med. 21, 197, 1964
- 30 Garfunkel, D.
Preparations and Properties of a Microsomal DPNH-
Cytochrome c Reductase
Arch. Biochem. Biophys. 71, 100, 1957
- 31 Geiger, P. J., O. K. Reiss, J. Wein und L. Hellerman
Glutamate Dehydrogenases : Validity of Sulfhydryl
Estimation; Facilitation by $\text{CH}_3\text{Hg}^{203}\text{Br}$
Fed. Proc. 19, No. 1 (Part 1), A-5, P 1656, 1960
- 32 Ghisla, S. und P. Hemmerich
Synthese des Flavoenzyms der MAO
FEBS Letters 16, 229, 1971
- 33 Goldberg, L. J.
Monoamine Oxidase Inhibitors. Adverse Reactions and
Possible Mechanisms
J. Am. Med. Assoc. 190, 456, 1964
- 34 Gomes, B., I. Igaue, H. Kloepper und T. Y. Yasunobu
Isolation and Characterization of the Multiple Beef
Liver Amine Oxidase Components
Arch. Biochem. Biophys. 132, 16, 1969
- 35 Gomes, B., G. Naguwa, H. G. Kloepper und K. T. Yasunobu
The Sulfhydryl Groups of Beef Liver Mitochondrial Amine
Oxidase
Arch. Biochem. Biophys. 132, 28, 1969

- 36 Gorkin, V. Z.
Monoamine Oxidases
PharmacolRev. 18, 115, 1966
- 37 Gorkin, V. Z.
Separation of Rat Liver Mitochondrial Amine Oxidases
Experientia 25, 1142, 1969
- 38 Green, D. E., D. W. Allman, R. A. Harris und
W. C. Tan
Enzym Localization in the Inner and Outer Mitochondrial
Membranes
Biochem. Biophys. Res. Commun. 31, 368, 1968
- 39 Green, H. und J. L. Sawyer
Biochemical and Pharmacological Studies with 5-Hydroxy-
tryptophan, Precursor of Serotonin
in: Progress in Brain Research, Vol. 8, Biogenic Amines,
eds. H. E. Himwich and W. A. Himwich, p. 150, Amsterdam-
London-New York, Elsevier Publ. Co., 1964
- 40 Hagen, U.
Toxikologie organischer Quecksilberverbindungen
Archiv. exp. Path. Pharmac. 225, 193, 1955
- 41 Harada, M., K. Mizutani und T. Nagatsu
Reinigung und Eigenschaften von mitochondrialer MAO aus
Rinderhirn
J. Neurochem. 18, 559, 1971
- 42 Harada, M. und T. Nagatsu
Identification of Flavin in the Purified Beef Brain
Mitochondrial MAO
Experientia 25, 583, 1969

- 43 Hardegg, W. und E. Heilbronn
Oxidation von Serotonin und Tyramin in Rattenleber
Biochem. Biophys. Acta 51, 553, 1961

- 44 Herigstad, R. R., C. V. Whitchair, N. Beyer,
O. Michelsen und M. J. Zabik
Chronic Methylmercury Toxicosis in Calves
J. Am. Vet. Assoc. 160, 173, 1972

- 45 Hirayama, K. und H. Takahashi
Studies on the Treatment for Methyl Mercury Poisoning:
Lowering of the Methyl Mercury Content in the Poisoned
Animal Brain
Kumamoto Med. J. 23, 56, 1970

- 46 Hirsch, G. H.
Inhibition of Renal Organic Ion Transport by Methyl
Mercury
Environ. Physiol. 1, 51, 1971

- 47 Höllerer, G. und J. Hoffmann
Quecksilberbestimmung in organischem Material
Z. für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung 150,
277, 1973

- 48 Holtz, P. und D. Palm
Brenzkatechine und andere sympathicomimetische Amine
Ergeb. Physiol. 58, 1, 1966

- 49 Hope, D. B. und A. D. Smith
Distribution and Activity of Monoamine Oxidase in
Mouse Tissues
Biochem. J. 74, 101, 1960

- 50 Hunter, D., R. Bomford und D. S. Russel
Poisoning by Methyl Mercury Compounds
Quart. J. Med. 9, 193, 1940
- 51 Inouye, M., K. Hoshino und U. Murakami
Effekt von Methylquecksilberchlorid auf die embryonale und fetale Entwicklung bei Ratte und Maus
Berichte Phys. phys. Chem. Pharm. 330, 505, 1974
- 52 Jensen, S. und A. Jernelov
Biological Methylation of Mercury in Aquatic Organisms
Nature 223, 753, 1969
- 53 Karavaeva, N. N., V. M. Mikhailew und P. K. H. Yuldashev
Study of Globulin A: Reduction of Disulfide Bonds
Khim. Prir. soedin 6, 383, 1970
- 54 Kearney, E. B., J. I. Salach, W. H. Walker, R. L. Seng, W. Kenney, E. Zeszotek und T. P. Singer
The Covalently-bound Flavin of hepatic MAO I
Eur. J. Biochem. 24, 321, 1972
- 55 Keckes, S. und J. K. Miettinen
Mercury as a Marine Pollutant
FAO Techn. Conf. Marine Pollution Rome, R 26, 1970
- 56 Kevorkian, J., D. P. Centro, J. R. Hyland, W. M. Bagozzi und E. v. Hollebeke
Mercury Content of Human Tissues During the Twentieth Century
Am. J. Public Health 62, 504, 1972
- 57 Kiwimäe, A., A. Swensson, U. Ulfvarson und G. Westöö
Methylmercury Compounds in Eggs from Hens after Oral Administration of Mercury Compounds
J. agric. Food Chem. 17, 1014, 1969

- 58 Klein, R., S. P. Herman, P. E. Brubaker, G. W. Lucier
und M. R. Krigman
A Model of Acute Methyl Mercury Intoxication in Rats
Arch. Pathol. 93, 408, 1972
- 59 Lagnado, J. R. und T. L. Sourkes
Inhibition of Amine Oxidase by Metal Ions and by
Sulphydryl Compounds
Canad. J. Biochem. 34, 1185, 1956
- 60 Langemann, H.
Enzymes and their Substrates in the Adrenal Gland of
the Ox
Brit. J. Pharmacol. 6, 318, 1951
- 61 Leach, S., A. Meschers und P. Springell
Micro and Submicro Methods for the Estimation of Thiol
and Disulfide Groups in Insoluble Proteins Using
Radioactive Mercurials
Anal. Biochem. 15, 18, 1966
- 62 Löfroth, G.
Methylmercury. A Review of Health Hazards and Side
Effects Associated with the Emission of Mercury
Compounds into Natural Systems
Ecological Research Committee, Bulletin No. 4, 2nd ed.,
Swedish Natural Science Research Council, Stockholm,
Sweden 1970
- 63 Löfroth, G.
The Mercury Problem: A Review at Midway
Trace Substances in Environmental Health, A Symposium
D. D. Hemphill, Ed., University of Missouri, Columbia
1973

- 64 Lucier, G., O. Mc Daniel, P. Brubaker und R. Klein
Effects of Methyl Mercury Hydroxid on Rat Liver
Microsomal Enzymes
Chem.-Biol. Interactions 4, 265, 1972
- 65 Luschinsky, H. L. und H. O. Singher
Identification and Assay of Monoamine Oxidase in the
Human Placenta
Arch. Biochem. 19, 95, 1948
- 66 Mc Ewen, C. M.
Human Blood Monoamine Oxidase: I. Purification and
Identification
J. Biol. Chem. 240, 2003, 1965
- 67 Miyakawa, T. und M. Deshimaru
Electron Microscopical Study of Experimentally Induced
Poisoning Due to Organic Mercury Compounds
Acta neuropath. 14, 126, 1969
- 68 Miyakawa, T., M. Deshimaru, S. Sumiyoshi, A. Teraoka,
N. Udo, E. Hattori und S. Tatetsu
Experimental Organic Mercury Poisoning - Pathological
Changes in Peripheral Nerves
Acta neuropath. 15, 45, 1970
- 69 Munro, I. C., S. M. Charbonneau, R. F. Willes, A. Moodie,
E. Nera, V. Montpetit, T. Goodman, D. Stoltz und H. C.
Grice
Toxic Effects of Methylmercury in the Rat
Toxicol. appl. Pharmacol. 22, 294, 1972
- 70 Nagatsu, T., T. Yamamoto und M. Harada
Purification and Properties of Human Brain Mitochondrial
MAO
Enzymologia 39, 15, 1970

- 71 Nakano, G. und T. Nagatsu
Purification and Properties of a Amine Oxidase in
Bovine Dental Pulp
Experientia 27, 1999, 1971
- 72 Nara, S., B. Gomes und K. T. Yasunobu
Beef Liver Mitochondrial MAO, a Copper Containing
Protein
J. Biol. Chem. 241, 2774, 1966
- 73 Nara, S., I. Igaue, B. Gomes und K. T. Yasunobu
Flavin as a Bound Cofactor of Beef Liver Mitochondrial
MAO
Biochem. Biophys. Res. Commun. 23, 324, 1966
- 74 Nelson, N.
Hazards of Mercury
Enviromental Research 4, 1, 1971
- 75 Nishida, M. und K. L. Yielding
Alteration in Katalytic and Regulatory Properties of
Glutamate Dehydrogenase Resulting from Reaction with
one Molecule of ^{14}C -labeled Methylmercuric Iodide
Arch. Biochem. Biophys. 141, 409, 1970
- 76 Norseth, T.
Biotransformation of Methylmercuric Salts in the
Mouse Studied by Specific Determination of Inorganic
Mercury
Acta pharmacol. toxicol. 29, 375, 1971
- 77 Norseth, T.
Biotransformation of Methyl Mercuric Salts in the
Rat with Chronic Administration of Methyl Mercuric
Cysteine
Acta pharmacol. toxicol. 31, 138, 1972

- 78 Norseth, T.
The Effect of Chelating Agents on Biliary Excretion
of Methyl Mercuric Salts in the Rat
Acta pharmacol. toxicol. 32, 1, 1973
- 79 Norseth, T. und M. Brendeford
Intracellular Distribution of Inorganic and Organic
Mercury in Rat Liver after Exposure to Methylmercury
Salts
Biochem. Pharmacol. 20, 1101, 1971
- 80 Norseth, T. und T. W. Clarkson
Studies on the Biotransformation of ^{203}Hg -labeled
Methyl Mercury Chloride in Rats
Arch. Environ. Health 21, 717, 1970
- 81 Norseth, T. und T. W. Clarkson
Biotransformation of Methyl Mercury Salts in the Rat
Studied by Specific Determination of Inorganic Mercury
Biochem. Pharmacol. 19, 2775, 1970
- 82 Norseth, T. und T. W. Clarkson
Intestinal Transport of ^{203}Hg -labeled Methyl Mercury
Chloride
Arch. Environ. Health 22, 568, 1971
- 83 Nuorteva, P.
Methylquecksilber in den Nahrungsketten der Natur
Naturwissenschaftliche Rundschau 24, 233, 1971
- 84 Oreland, L.
Purification and Properties of Pig Liver Mitochondrial
MAO
Arch. Biochem. 146, 410, 1971

- 85 Palm, D. und U. Magnus
Hemmung der MAO und DAO durch Furazolidon im Tier-
und Selbstversuch
Arch. Pharmacol. exp. Path. 257, 319, 1967
- 86 Passow, H., A. Rothstein und T. W. Clarkson
The General Pharmacology of the Heavy Metals
Pharmacol. Rev. 13, 185, 1961
- 87 Pekkanen, T. J.
The Effect of Experimental Methyl Mercury Poisoning
on the Distribution of Acid Phosphatase During Autolysis
in Cat Liver
Acta vet. scand. 12, 523, 1971
- 88 Pekkanen, T. J. und L. A. Lindberg
Ultrastructural and Microsomal Protein Content of
Mouse Liver Treated with Methylmercury
Acta pharmacol. toxicol. 31, 337, 1972
- 89 Pekkanen, T. J. und M. Sandholm
The Effect of Experimental Methyl Mercury Poisoning
on the Number of SH-Groups in the Brain, Liver, and
Muscle of the Rat
Acta vet. scand. 12, 551, 1971
- 90 Pekkanen, T. J. und M. Sandholm
The Effect of Experimental Methylmercury Poisoning on
the Glucose Content of the Erythrocytes, the Plasma,
the Muscle, and the Liver in Rats
Acta vet. scand. 13, 1, 1972
- 91 Pekkanen, T. J. und M. Sandholm
The Effect of Experimental Methyl Mercury Poisoning on
the Activity of the TPNH-specific Glutathione Reductase
of Rat Brain and Liver
Acta vet. scand. 13, 14, 1972

- 92 Philpot, F. J.
Some Observations on the Oxidation of Tyramine in
the Liver
Biochem. J. 31, 856, 1937
- 93 Pietz, K. A.
Cross-Linking of Collagen and Elastin
Ann. Rev. Biochem. 37, 547, 1968
- 94 Piper, R. C., V. L. Miller und E. O. Dickinson
Experimental Methyl Mercury Toxicosis in Pigs
Amer. J. Vet. Res. 32, 263, 1971
- 95 Planz, G., K. Quiring und D. Palm
Rates of Recovery of Irreversibly Inhibited Monoamine
Oxidase: A Measure of Enzyme Protein Turnover
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharm. 273, 27, 1972
- 96 Pletscher, A.
Monoamine Oxidase Inhibitors
Pharmacol. Rev. 18, 121, 1966
- 97 Pletscher, A., K. F. Gey und P. Zeller
Monoaminoxidasehemmer
Fortschr. Arzneimittelf. 2, 417, 1960
- 98 Pscheidt, G. R.
Monoamine Oxidase Inhibitors
Int. Rev. Neurobiology 7, 191, 1963

- 99 Racker, E. und H. Proctor
Reconstitution of the Outer Mitochondrial Membrane
with Monoamine Oxidase
Biochem. Biophys. Res. Commun. 39, 1120, 1970
- 100 Ragland, J. B.
Submitochondrial Localization of Monoamine Oxidase
Fed. Proc. 26, Abstract No. 3274, 1967
- 101 Ragland, J. B.
Multiplicity of Mitochondrial MAOs
Biochem. Biophys. Res. Commun. 31, 203, 1968
- 102 Richter, D. und A. H. Tingey
Amine Oxidase and Adrenaline
J. Physiol. 97, 265, 1939
- 103 Rissanen, K., J. Erkana und J. V. Miettinen
Experiments on Biological Methylation of Mercury (2+)
Ion by Mud and Sludge in Anaerobic Conditions
FAO Techn. Conf. Marine Pollution Rome, E-61, 1970
- 104 Robinson, J.
Amine Oxidase in the Iris and Nictitating Membrane
of the Cat and the Rabbit
Brit. J. Pharmacol. 7, 99, 1952
- 105 Samed, M. A., Z. I. Akopyan, I. V. Veryovkina,
A. A. Kulygina und V. Z. Gorkin
Effect of Monoamine Oxidase Inhibitors on Qualitative
Alterations in Enzymatic Properties of Mitochondrial
Monoamine Oxidases
Biochem. Pharmacol. 20, 2571, 1971

- 106 Schnaitman, C., V. G. Erwin und J. W. Greenawalt
The Submitochondrial Localization of MAO
J. Cell. Biol. 32, 719, 1967
- 107 Schoepke, H. G., und R. G. Wiegand
Relation between Norepinephrine Accumulation or
Depletion and Blood Pressure Responses in the Cat
and Rat Following Pargyline Administration
Ann. N. Y. Acad. Sci. 107, 924, 1963
- 108 Sho, S., H. Kineundi, T. Egashira, M. Seki, M. Yamada
und T. Shinoda
Solubilization and Purification of Mitochondrial
Monoamine Oxidase
Folia Pharmacol. Jap. 66, 442, 1970
- 109 Sierens, L. und A. D'Iorio
Multiple MAO in Rat Liver Mitochondria
Canad. J. Biochem. 48, 659, 1970
- 110 Singer, T. P. und E. S. G. Barron
Sulphydryl Enzymes in Fat and Protein Metabolism
J. Biol. Chem. 157, 241, 1945
- 111 Snih, J.-H. C. und S. Eiduson
Multiple Forms of Mitochondrial MAO in the Developing
Brain
Nature 224, 1309, 1969
- 112 Springell, P. H. und S. J. Leach
Cystin Content of Cattle Hair
Nature 208, 1326, 1965

- 113 Spyker, J. M. und M. Smithberg
Effect of Methylmercury on Prenatal Development in
Mice
Teratology 5, 181, 1972
- 114 Svensson, A. und U. Ulfvarson
Experiments with Different Antidots in Acute Poisoning
by Different Mercury Compounds; Effects on Survival
and on Distribution and Excretion of Mercury
Int. Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg. 24, 12, 1967
- 115 Takeda, Y. und T. Ukita
Metabolism of Ethylmercuric Chloride- ^{203}Hg in Rats
Toxicol. appl. Pharmacol. 17, 181, 1970
- 116 Takahashi, H., K. Hirayama und T. Kuroda
The Use of Pyridoxine-5-thiol in Methyl Mercury Poisoning
Toxicol. appl. Pharmacol. 18, 988, 1971
- 117 Takeuchi, T., N. Morikawa und H. Matsumoto
A Pathological Study of Minimata Disease in Japan
Acta neuropath. 2, 40, 1962
- 118 Tejning, S.
Biological Effects of Methyl and Ethyl Mercury Compounds
Used as Desinfectants for Seed Grain on Domestic and
Wild Life
Meded. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent 36, 50, 1971
- 119 Thompson, R. H. S. und A. Tickner
Observations on the MAO Activity of Placenta and
Uterus
Biochem. J. 45, 125, 1949

- 120 Tillander, M., J. K. Miettinen und I. Koivisto
Excretion of Methyl Mercury in the Seal (*Phoca hispida*)
FAO Techn. Conf. Marine Pollution, Rome, E-67, 1970
- 121 Tipton, K. F.
The Presence of Flavin-Adenine Dinucleotide in
Preparations of Pig Brain Monoamine Oxidase
Biochem. J. 104, 36, 1967
- 122 Tipton, K. F.
The Submitochondrial Localization of MAO in Rat
Liver and Brain
Biochem. Biophys. Acta 135, 910, 1967
- 123 Tipton, K. F.
The Purification of Pig Brain Mitochondrial Monoamine
Oxidase
Eur. J. Biochem. 4, 103, 1968
- 124 Tipton, K. F.
The Prosthetic Groups of Pig Brain Mitochondrial MAO
Biochem. Biophys. Acta 159, 451, 1968
- 125 Udenfriend, S., B. Witkop, B. G. Redfield und
H. Weissbach
Studies with Reversible Inhibitors of MAO: Harmaline
and Related Compounds
Biochem. Pharmacol. 1, 160, 1958
- 126 Ulfvarson, U.
The Effect of the Size of the Dose on the Distribution
and Excretion of Mercury in Rats after Single Intra-
venous Injection of Various Mercury Compounds
Toxicol. appl. Pharmacol. 15, 517, 1969

- 127 Verity, M. A., C. Su und J. A. Bevan
Transmural and Subcellular Localization of MAO and
COMT in Rabbit Aorta
Biochem. Pharmacol. 21, 193, 1972
- 128 Wahhed, A. und S. Shall
Chemical Modification of the Active Site of Yeast
Invertase
Biochem. Biophys. Acta 242, 172, 1971
- 129 Walker, W. H., E. B. Kearney, R. L. Seng und
T. P. Singer
The Covalently-bound Flavin of Hepatic MAO II
Eur. J. Biochem. 24, 328, 1971
- 130 Winne, D.
Zur Auswertung von Versuchsergebnissen: Die Prüfung,
ob Kurven sich in ihrem Verlauf unterscheiden
Arch. exp. Path. Pharmacol. 250, 385, 1965
- 131 World Health Organization Technical Report Series
No. 505
Evaluation of Certain Food Additives and the
Contaminants Mercury, Lead, and Cadmium
Sixteenth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee
on Food Additives, Geneva, 4-12 April 1972
Published by FAO and WHO, Geneva 1972
- 132 Yamada, H. und K. T. Yasunobu
Copper, One of the Prosthetic Groups of Plasma Monoamine
Oxidase
J. Biol. Chem. 237, 3077, 1962
- 133 Yamini, B. und S. D. Sleight
Chronic Methylmercury Toxicosis in the Guinea Pig
J. A. Vet. Med. Ass. 163, 593, 1973

- 134 Yang, H. Y. T., C. Goridis und N. H. Neff
Properties of MAO in Sympathetic Nerve and Pineal
Gland
J. Neurochem. 19, 1241, 1972
- 135 Yoshino, Y., T. Mozai und K. Nakao
Biochemische Veränderungen im Gehirn von Ratten nach
Vergiftung mit einer Alkyl-Hg-Verbindung mit besonde-
rer Bezugnahme auf die Hemmung der Proteinsynthese
in Schnitten der Gehirnrinde
J. Neurochem. 13, 1223, 1966
- 136 Youdim, M. B. H., G. G. S. Collins und M. Sandler
Multiple Forms of Rat Brain Monoamine Oxidase
Nature 223, 626, 1969
- 137 Youdim, M. B. H. und G. G. S. Collins
The Dissoziation and Reassoziation of Rat Liver
Mitochondrial Monoamine Oxidase
Eur. J. Biochem. 18, 73, 1971
- 138 Zeller, E. A.
Studies on the Active Center of MAOs
Experientia 16, 399, 1960
- 139 Zeller, E.A., J. Barsky, J. R. Fouts, W. F. Kirchheimer
und L. S. V. Orden
Influence of Isonicotinic Acid Hydrazide (INH) and
1-Isonicotinyl-2-isopropyl Hydrazide (IIH) on Bacterial
and Mammalian Enzymes
Experientia 8, 349, 1952
- 140 Zeller, E. A., P. Stern und L. A. Blanksma
Degradation of Histamine by Monoamine Oxidase
Naturwissenschaften 43, 157, 1956

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. A. Schmid für die Überlassung des Themas, für die stets gewährte Unterstützung und die wertvollen Anregungen bei der Durchführung der Arbeit.

Herrn Oberfeldveterinär Dr. Maurus und Herrn Oberstabsveterinär Dr. Weigert von der Veterinäruntersuchungsstelle der Bundeswehr VI danke ich für die freundliche Bereitstellung des Atomabsorptionsspektrometers.

LEBENS LAUF

Ich wurde am 28.7.1946 in München als erstes Kind des leitenden Angestellten Jürgen Wolf und seiner Frau Elisabeth, geb. Noris, geboren.

In Amberg/Opf. besuchte ich die Volksschule und die ersten beiden Klassen des Humanistischen Gymnasiums. Meine Schulzeit beendete ich auf dem Staatlichen Görresgymnasium in Düsseldorf, wo ich im Herbst 1966 die Reifeprüfung ablegte. Danach studierte ich an der Ruhruniversität Bochum Rechtswissenschaften. Dieses Studium brach ich nach 2 Semestern ab und begann im Herbst 1967 an der Ludwig-Maximilians-Universität mit dem Studium der Tiermedizin. Im Herbst 1972 bestand ich das Staatsexamen und erhielt am 20.12.1972 meine Bestallung als Tierarzt. Seit November 1972 arbeite ich als Doktorand am Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie der Tierärztlichen Fakultät, jetzt Fachbereich Tiermedizin der Universität München.

